IMPERIAL AGRICULTURAL
RESEARCH INSTITUTE, NEW DELHI.

16108/36

Zentralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschließlich der Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, sowie Tierkrankheiten (ausschließlich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str 17/19

87. Band

Mit 70 Abbildungen im Text und 5 Tafeln

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1932/33

Alle Rechte vorbehalten
Printed in Germany

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 87. No. 1/4.
Ausgegeben am 20. Oktober 1932.

Nachdruck verboten.

Some Observations on Species of Actinomyces Found in Samples of Milk.

By C. H. Chalmers, B. Sc.,
Assistant Lecturer in Agricultural Botany and Bacteriology.
The University, Leeds.

With 1 figure in the text.

Introduction.

A survey of the available literature shows that very little work has been done on the occurrence of species of Actinomyces in milk. Fellers (1) has made some observations on these organisms with special reference to the production of undesirable flavours and odours, and has shown that "under certain conditions actinomyces may cause an obnoxious mouldy bitter taste to develop in milk after some hours storage". Eleven species were isolated by Fellers, of which the two most active were members of the A. griseus and A. albus groups of Waksman.

A preliminary paper was published, while this work was in progress, by Miss Heather Mason (2) on "Some organisms in Pasteurised Milk". This worker isolated 29 cultures of actinomyces from 200 samples of pasteurised milk; these cultures proving to be recurring examples of five species, namely A. albus, A. lipmannii, A. griseus, A. violaceus ruber, and A. reticulus ruber.

Although a considerable amount of work has been done on actinomyces generally, by Waksman, Curtis, Conn, Millard and Burr, Lieske and others, no specific work, other than that already stated, appears to have been carried out on the relation of these organisms to milk.

The object of the present work was to investigate the frequency of occurrence of species of actinomyces in milk; and to study the nature of some of the changes which they produce.

Experimental.

1. The frequency of occurrence of species of actinomyces in milk.

An experiment was set up with the object of determining (1) the number of actinomyces which were present in samples of milk at different times of the year, and (2) the relative numbers of actinomyces to bacteria.

One thousand two hundred samples of milk were plated out on nutrient agar having the following composition:

Meat extract (Lemco)	3.0 grams
Peptone (Allen and Hanburys)	5.0 ,,
Agar-agar (shreds)	15.0 ,,
Tap water	1000.0 c. cs.
pH	6.8

The plates were incubated at 37° C. for 48 hours, and then at 25° C. for 14 days. The number of actionmyces and bacterial colonies on the plates were then counted, i. e. after 16 days' incubation.

The samples were taken at intervals during a complete year.

The results show that of the 1,200 samples of milk examined only 62 samples, or 5.17 per cent contained actinomyces. In no case was the number of actinomyces colonies found on the plates very great; the maximum number of colonies on a $^1/_{10}$ c.c. dilution being 24.

The average number of bacteria per cubic centimetre was 215,883, whilst the average number of actinomyces colonies per cubic centimetre was 36; the latter figure, therefore, represents a very small percentage of the total number of organisms in the milk.

A summary of the results is given in Table I.

Table I.

Summary of the results obtained from the Examination of 1,200 samples of Milk.

Month of Year	No. of samples	Average No. of bacteria per c. c. per sample	Lowest No. of bacteria per c. c. per sample	Highest No. of bacteria per c. c. per sample	Average No. of actinomyces colonies on a $^1/_{10}$ c. c. plate	Max. No. of actinomyces colonies on a $^1/_{10}$ c. c. plate	Min. No. of actinomyces colonies on a $^1/_{10}$ c. c. plate	No. of samples which contained actinomyces
January	104	5,100	120	176,000	2	6	1	5
February	120	39,377	150	210,000	3	15	3	8
March .	116	24,800	120	328,660	5	24	1	9
April . .	93	4,431	260	576,000	8	20	2	7
May . .	130	82,700	200	1,000,000	4	7	3	3
June . .	140	21,200	790	960,000	1	3	1	2
July . .	86	390,983	26,200	1,200,000	2	5	1	3
August .	54	603,000	3,700	2,200,000	—	—	—	—
Septbr. .	75	123,833	2,100	870,000	2	4	1	3
October.	93	258,325	1,600	1,100,000	4	8	1	7
Novemb.	99	675,850	2,200	2,100,000	6	12	2	6
Decemb.	90	361,000	160	760,000	6	9	3	8
Averages p. month	100	215,883	3,133	956,722	3.6	9.3	1.6	5.17

Average age of samples when examined 27 hours.

It is significant that the number of actinomyces colonies found on the plates was higher during the winter months than during the summer ones. Since actinomyces spores are found in large numbers in the dust of hay and straw, the probable cause of the larger number of actinomyces colonies found in the winter milk lies in the fact that at this time of the year the milk is more liable to contamination by dust. This is supported by the additional fact that the actinomyces colonies were generally found on the plates from milk which had a high bacterial count, and that on such plates colonies of Bacillus subtilis, and even of fungi, were generally present.

Since the majority of actinomyces colonies appeared on the plates only after about one week of incubation, it may be concluded, from the work of Subermanyan and Norris (3), that the organisms are normally present in fresh milk in the conidial form. These workers have shown that the mycelium of actinomyces germinates, and produces visible colonies on agar medium after 3 or 4 days' incubation at 25° C., whilst the conidia do not germinate until after 6 or 7 days' incubation.

This part of the work, therefore, indicates that:

(1) the number of samples of milk which contains actinomyces is small; only about 5 per cent of the samples examined containing the organisms.

(2) the actinomyces represented only a very small percentage of the total number of organisms in the samples.

(3) the number of samples which contained actinomyces was greater during the winter than during the summer months, and

(4) the actinomyces were probably present in the milk in the conidial form.

2. Observations on the species of actinomyces isolated from the samples of milk.

a) Isolation of the strains.

Cultures were made from each actinomyces colony which grew on the nutrient agar plates, except in the case of those plates which showed more than ten colonies, when only those which appeared to be different were picked off.

It is important when examining the plates for actinomyces to observe each colony under the microscope in order to see if it has the characteristic mycelial structure since colonies of some species, which do not produce an aerial mycelium, have an appearance very similar to that of a bacterial colony.

Each culture was purified by plating it out several times on glucose synthetic agar; two hundred and thirty four actinomyces cultures being thus obtained. In order to separate the cultures into strains, they were inoculated on to slopes of saccharose synthetic agar, glycerine synthetic agar, calcium malate agar, and into sterile separated brom-cresol milk. Only those cultures which showed differences in type or colour of growth on these media were retained, the others being considered as similar to one or other of the selected strains. From the 234 cultures, 28 strains have been isolated.

b) Frequency of occurrence of the strains.

The number of cultures of each strain is given in the following table, Table 2, from which it will be seen that 189 of the 234 cultures, i. e. 80.8 per cent had the microscopic characters of one or other of six strains, namely Nos. 3, 6, 17, 28, 48, 54.

It is interesting to note that strain No. 6, of which there were 26 cultures, had many characters of A. griseus of Waksman. Strain No. 48, of which there were 18 cultures, resembled A. reticulus ruber, and strain No. 4, of which there were five cultures, was very similar to A. violaceus ruber. Both Fellers (1) and Mason (2) found that those three species were common in milk.

Table 2. Frequency of occurrence of the strains of actinomyces isolated from samples of milk.

Number of strain	Frequency of occurrence
28	48 cultures
3	44 „
17	31 „
6 (A. griseus sp.)	26 „
54	22 „
48 (A. reticulus ruber sp.)	18 „
5	7 „
4 (A. violaceus ruber sp.)	5 „
41	5 „
37	4 „
2	2 „
7	2 „
19	2 „
25	2 „
33	2 „
34	2 „
44	1 „
45	1 „
1	1 „
10	1 „
15	1 „
17	1 „
23	1 „
36	1 „
38	1 „
43	1 „
50	1 „
52	1 „
	Total 234 cultures

Table 3. The action of 28 strains of actinomyces on separated brom-cresol milk after three weeks' incubation at 25° C.

Strains producing strong alkalinity	Strains producing moderate alkalinity	Strains producing no change	Strains producing slight acidity
3 C. D.	2 C. D.	1 —	38 C.
5 C. D.	41 C. D.	50 —	10 C. D.
17 D.	54 D.		23 C.
19 C. D.	7 C. D.		36 C. D.
28 C. D.	43 C. D.		
33 C. D.	48 D.		
34 D.	4 D.		
37 C. D.	6 D.		
44 D.			
51 C. D.			
25 C. D.			
45 D.			
15 D.			
17 D.			

C. D. indicates that a curd was produced which was later digested. D. indicates digestion of the casein without production of curd. — indicates that no change took place in the milk.

c) Action of the 28 strains on Brom-cresol milk.

The results of the action of the 28 strains on brom-cresol milk are interesting. It was found that the cultures could be divided into four groups according to the degree of acidity or alkalinity which they produced in this

medium. Fourteen strains produced strong alkalinity, eight moderate alkalinity, two produced no change in the medium, while four produced slight acidity. Those strains which produced alkalinity also digested the curd. Sixteen of the 28 strains curdled the milk[1]), while ten digested the casein without previously producing a curd. The six strains which occurred with greatest frequency produced alkalinity. The following table 3 gives the strain number and its action on milk.

d) Further separation of the strains by their reaction to various media.

Seventeen of the more commonly occurring strains, namely Nos. 3, 4, 5, 6, 7, 17, 19, 25, 28, 33, 34, 37, 41, 44, 45, 48, and 54, were examined in detail with the object of identifying them.

The method used to identify the strains is that suggested by Millard and Burr (4) which is a modification of Waksman's method (5). It is based on the fact that each species shows cultural details which are constant and characteristic. Millard and Burr state "that the point of greatest importance is that the cultures undergo a sequence of changes during their period of growth. This period of growth varies somewhat with the medium, but more generally, with the particular species". The sequence of changes may, in some cases, be completed in ten days, while in others it may take three weeks. "Where these progressive changes are noted, the recognition of any species is a comparatively simple matter, and so definite are the characters that it becomes unnecessary to use more than a moderate number of media for their delimitation". "The manner of growth on solid and liquid media, the mode of formation of the aerial mycelium, the colour changes in the vegetative and reproductive parts and pigment production in the medium, constitute a wealth of diagnostic data".

The media used for the determination of the characters were, with the exception of carrot plug, the same both in number and composition as those used by Millard and Burr; eleven different solid media and seven different liquid media being used for the identification of each strain. Each culture was duplicated on all the media, and the consistency of each character or gradation noted. All the cultures were incubated at 25° C. with the exception of gelatine, which was grown at 15° C. The cultures were kept for four weeks, and records made at weekly intervals. A final observation was made after two months.

A short key has been worked out which may be useful to distinguish the species, but no attempt has been made either to classify or name the strains.

A detailed description of each species is appended.

A key to the main characters of the strains.

A. M. = Aerial mycelium.

Tyrosinate production, negative.
Alkaline reaction produced in Brom-cresol milk.

	Strain No.
1. Growth in dextrose and saccharose synthetic solution.	
A. A. M. produced on Calcium malate glycerine agar.	
No. A. M. produced on Potato agar.	
a. A. M. produced on Egg albumen agar	48
b. No A. M. produced on Egg albumen agar	4, 6

[1]) The curd produced was a very soft one, and in some cases it was difficult to decide if curdling had taken place.

	Strain No.
B. No A. M. produced on Calcium malate glycerine agar. A. M. produced on Potato agar.	
a. A. M. produced on Egg albumen agar	45, 3
b. No A. M. produced on Egg albumen agar	5, 7
C. A. M. produced on both Calcium malate glycerine agar and Potato agar.	
b. No A. M. produced on Egg albumen agar	54
2. No growth in Saccharose synthetic or Dextrose synthetic solution.	
A. A. M. produced on both Calcium malate glycerine and Potato agars.	
a. A. M. produced on Egg albumen agar	19, 25, 28, 34, 41
b. No A. M. produced on Egg albumen agar	37, 44
3. No growth in Saccharose synthetic solution, growth in dextrose synthetic solution.	
A. A. M. produced on both Calcium malate glycerine and Potato agars.	
b. No A. M. produced on Egg albumen agar	17, 33

e) Notes on the Cultural Characters of the 17 Strains.

A consideration of the characters of the strains when growing on the different nutrient agars shows that they can be divided into two large groups. The first group produces poor growth in liquid media composed of Saccharose, glycerine, and dextrose synthetic solutions, whereas the second group produces good growth in these media. This difference in the strains is also revealed in their growth on saccharose glycerine and dextrose synthetic agars.

It is interesting to note that each of the 17 strains hydrolysed the casein of milk with the production of alkalinity, grew well on nutrient agar at 37° C. (many producing aerial mycelium by the third day), and was Gram positive, while no strain produced tyrosinase, grew under anaerobic conditions, or was acid fast.

The action of some of the strains on gelatine is also worthy of note. Strains Nos. 34 and 48 decomposed gelatine very slowly, and left it so viscous that it almost refused to run when the tube was laid horizontally. Strain No. 41 did not commence to decompose the gelatine until after four weeks incubation. No strain produced surface growth, but all grew well along the line of inoculation.

Strain No. 4 resembled A. violaceus ruber Waksman and Curtis in many of its characters, the chief difference being that it did not produce a blue pigment in saccharose synthetic solution.

Strain No. 48 resembled A. reticulus ruber of Waksman and Curtis, but did not produce a pigment in gelatine.

Strain No. 6 appears to be related to A. griseus Waksman and Curtis. It produced a green to yellow colour on most synthetic nutrient agars, and a black strain in sterile separated milk.

Strains Nos. 17 and 33 are interesting because of the rapidity with which they hydrolyse starch. In both cases the hydrolytic zone extended to the edge of the Petri plate.

3. The rate of growth of some of the strains in sterile separated milk.

Experiments were carried out to determine the rate of growth of some of the strains of actinomyces in sterile separated milk.

Ten strains only have been tested in this way.

A number of 300 c.c. conical flasks were inoculated with different strains of actinomyces and incubated at 25° C. Each flask contained 150 c.c. of sterile separated milk and was inoculated by the addition of 5 c.c. of a three day old culutre in milk of the strain. Each day the flasks were shaken, and at definite intervals one cubic centimetre removed and plated out on nutrient agar of similar composition to that used in determining the number of actinomyces in samples of milk. The Petri plates were incubated at 37° C. for one week.

At the same time as the determination of the rate of growth was made, acidity, formol and ammonia titrations were carried out, separate flasks being used for each. In addition the samples were tested every day during the first week, and the stage at which a taint developed noted.

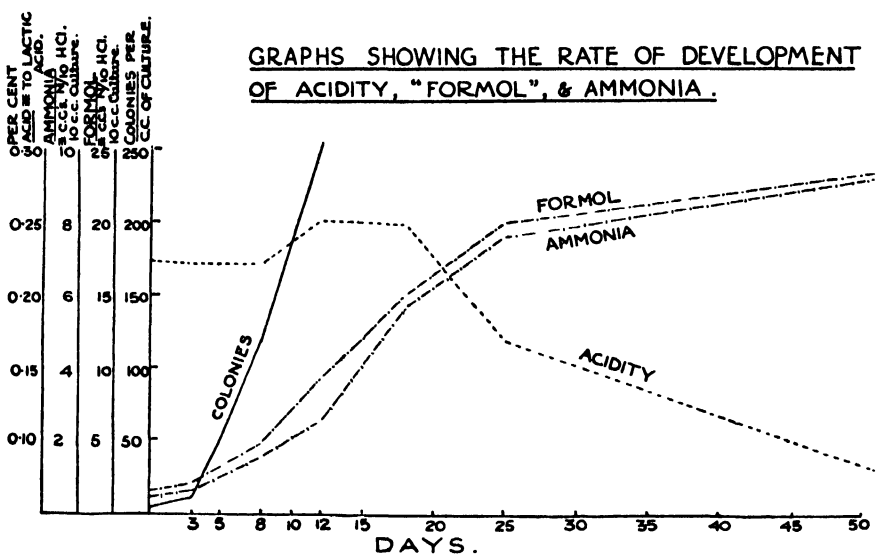


Fig. 1.

The acidity determinations were made by drawing off 5 c.c. of the milk and titrating it with N/40 NaOH. using phenolphthalein as an indicator. The results are given as percentage lactic acid.

The extent of protein sission in each culture was measured by Sörensen's method of formol titration; the neutralised milk from the acidity determinations being used for these titrations. Twenty five cubic centimetres of neutralised formol were added, and the mixture again titrated to neutrality with N/10 NaOH. The results are given as cubic centimetres of N/10 NaOH per 10 c.c. of culture.

The ammonia determinations were made by taking 5 c.c. of the culture, adding to it 50 c.c. of distilled water, and 50 c.c. of Barium hydroxide, and distilling off 50 c.c. of the mixture, catching the distillate in N/10 HCl (10 c.c.). The distillate was titrated with N/10 NaOH, using neutral red as an indicator. The ammonia is given as equivalent to cubic centimetres of N/10 HCl per 10 c.c. of culture.

The results of these experiments are given in Tables, 4, 5, 6, and 7, and are shown graphically in Fig. 1.

Table 4. Rate of growth of 10 strains of Actinomyces in sterilised separated Milk. Temperature of incubation 25° C.

Strain No.	Number of colonies per c. c. of culture. Days of incubation.					
	Start	3	4	5	8	12
3	244	410	1,620	—	124,000	—
4	348	550	1,600	—	138,000	—
5	680	1,100	7,800	12,800	38,000	152,000
6	600	2,070	6,000	—	—	210,000
17	336	1,020	—	17,000	26,000	120,000
28	36,000	100,000	210,000	450,000	1,000,000	1,740,000
37	800	1,100	3,100	6,200	—	131,000
41	800	1,200	—	8,400	31,000	92,000
48	512	1,100	2,840	4,300	10,400	116,000
54	400	621	3,300	5,100	22.000	—
Average	4,072	10,917	29,532	71,971	173,675	365,857

Table 5. Rate of change of acidity of sterile separated Milk inoculated with Actinomyces.

Strain No.	Acidity of Culture calculated as percentage Lactic Acid. Days of Incubation.								
	Start	3	4	5	8	12	18	25	51
3	0.224	0.215	—	—	0.218	0.231	0.237	0.148	0.052
4	0.224	0.222	—	—	0.218	0.229	0.231	0.163	0.12
5	0.224	0.220	—	—	0.218	0.239	0.242	0.196	0.091
6	0.224	0.224	—	—	0.220	0.333	0.239	0.157	0.052
17	0.224	0.212	—	—	0.222	0.231	0.231	0.176	0.096
28	0.224	0.229	—	—	0.239	0.349	0.329	0.231	0.063
37	0.224	0.222	—	—	0.224	0.237	0.242	0.163	0.12
41	0.224	0.224	—	—	0.225	0.235	0.239	0.148	0.11
48	0.224	0.213	—	—	0.220	0.237	0.242	0.174	0.096
54	0.224	0.224	—	—	0.218	0.235	0.239	0.178	0.027
Average	0.224	0.220	—	—	0.222	0.255	0.247	0.173	0,0827

Table 6. Production of ammonia in sterile separated milk inoculated with Actinomyces. Temperature of incubation 25° C.

Strain No.	Ammonia in culture calculated as c. cs. of N/10 HCl per 10 c. c. culture. Days of incubation.								
	Start	3	4	5	8	12	18	25	51
3	0.5	0.7	—	—	1.9	2.1	6.0	6.8	10.2
4	0.5	0.6	—	—	1.2	2.5	5.7	9.4	9.8
5	0.5	0.5	—	—	1.9	3.2	7,1	5.6	11.0
6	0.5	0.7	—	—	1.5	2.1	5.7	10.0	8.4
17	0.5	0.6	—	—	1.2	1.4	5.0	7.2	8.4
28	0.5	0.7	—	—	1.7	3.7	5.5	7.8	9.0
37	0.5	0.5	—	—	1.7	2.7	7,1	9.3	10.0
41	0.5	0.5	—	—	1.8	2.2	5,0	6.2	9.2
48	0.5	0.5	—	—	1.8	2.6	5.1	6.2	7.8
54	0.5	0.5	—	—	1.7	2.8	5.5	7.1	9.0
Average	0.5	0.58	—	—	1.64	2.53	5.77	7.57	9.28

Table 7. Rate of Protein sission in sterile separated Milk inoculated with Actinomyces. Temperature of incubation 25° C.

Strain No.	Formal titration — c. c. of N/10 NaOH required for 10 c. c. of culture. Days of incubation.								
	Start	3	4	5	8	12	18	25	51
3	1.6	1.7	—	—	4.7	10.1	14.8	17.4	25.0
4	1.6	1.8	—	—	6.4	10.1	18.6	22.4	25.0
5	1.6	1.7	—	—	4.5	9.2	12.0	17.6	23,4
6	1.6	1.6	—	—	4.7	9.5	14.8	17.4	27.0
17	1.6	1.6	—	—	4.9	12.4	18.6	22.2	25.0
28	1.6	1.8	—	—	4.5	6.0	13.1	21.0	21.1
37	1.6	1.7	—	—	4.2	6.3	12.0	22.0	22.4
41	1.6	1.6	—	—	4.8	10.2	15.2	21.2	21.6
48	1.6	2.9	—	—	5.6	11.2	19.2	22.8	23.0
54	1.6	1.8	—	—	4.6	9.1	12.0	17.6	20.2
Average	1.6	1.82	—	—	4.89	9.41	15.03	20.16	23.3

As far as is indicated by the number of colonies which grew on the Petri plates, it appears that actinomyces grow very slowly in milk held at 25° C. The number of colonies which grew on the plates is probably not a true indication of the extent of the growth of the organisms within the milk, as each colony does not represent an individual cell or group of cells, but merely a portion of mycelium which has broken away from a large mass. Moreover, after the first four days the masses of mycelium were so large that the pipette became blocked when the samples were being drawn from the flasks. These masses of mycelium could not be broken up by shaking, and consequently a truly representative sample was unobtainable.

The rate of change of acidity of the milk was slow, and it was not until after the first week of incubation at 25° C. that any notable change took place. After the first week the acidity rose until it was equivalent to about 0.25 per cent. lactic acid; the maximum point being reached generally at about the end of the second week. The acidity then began to fall steadily until at the 50th day it was in many cases less than 0.1 per cent. The cause of the increase in the acidity of the milk during the second week is not clear.

The ammonia and formal curves are interesting, running almost parallel to each other throughout the experiment. During the first week there was comparatively little protein sission, and consequently only a small amount of ammonia was formed. Towards the end of the second week there was a distinct rise in both the formal and ammonia curves, which was continued throughout the experiment.

An "actinomyces" taint developed in the milk inoculated with Strain No. 28 about the fourth day, although in the other cultures a taint did not appear until about the eighth day. This may be due, in part, to the heavier initial inoculation of the flask with Strain No. 28. Generally about 100,000 colonies per cubic centimetre were present on the plates before a taint developed in the milk. Once the taint appeared, however, it became much stronger each day.

From these data it may be concluded that actinomyces grow very slowly in milk, even though incubated at 25° C. and it is, therefore, probable that in fresh milk they would be rapidly overgrown by other organisms.

Moreover, as protein sission and the production of ammonia did not commence until after one week of incubation at 25° C. these organisms, under ordinary conditions, would have little effect on the keeping quality of fresh milk.

4. The death temperature of the 18 Strains in Sterilised Separated Milk.

The death temperature of the mycelium of each of the 17 strains was determined in separated milk. This was carried out in the usual way, except that the cultures were held at the required temperature for half an hour. All the strains tested withstood the temperatures used for ten minutes; hence the time factor was extended to half an hour.

The results show that, with the exception of three cultures, namely No. 4 (A. violaceus ruber), No. 48 (A. reticulus ruber), and No. 41 all withstood a temperature of 60° C. Only four cultures, namely Nos. 19, 28, 37, and 44, survived a temperature of 65° C., while 70° C. was lethel to all strains.

The death temperature of the conidia of each of the various strains was similar to that of the vegetative mycelium, with the exception of strains Nos. 37 and 28. The conidia of these two strains withstood a temperature of 70° C. for half-an-hour.

This observation may be of importance in connection with the pasteurisation of milk which has become contaminated with spores of actinomyces before it is heated; the conidia will not have germinated, and may resist the temperature of pasteurisation. If the contamination be sufficiently great, these organisms may be responsible, in some cases, for the development of undesirable flavours in the milk.

Summary and Conclusions.

1. The occurrence of species of actinomyces in samples of milk is very rare; only about 5 per cent. of the samples examined were found to contain these organisms.

2. The number of samples of milk which contained actinomyces was found to be greater during the winter than during the summer months.

3. Actinomyces are probably present in milk in the conidial form.

4. The variety of strains of actinomyces which do occur in milk is very great, and their identification difficult.

5. The majority of the strains isolated during this investigation produced alkalinity in milk.

6. Actionmyces grow very slowly in milk, even when it is incubated at 25° C. and no marked change appears to take place in the milk until after it has been incubated at this temperature for about one week.

7. A comparatively heavy contamination of the milk with actinomyces is necessary before the characteristic earthy smell of actinomyces is produced in milk, and even then the milk must be incubated for about four to seven days.

8. Although each strain could withstand a temperature of 60° C. only four survived 65° C. for half-an-hour.

References.

(1) J. of Dairy Science. Vol. 5. 1922. No. 5. — (2) Agricultural Progress. Vol. 6. 1929. — (3) J. of the Indian Institute of Sc. Vol. 12 a. Part 4. — (4) Ann. of Applied Biology. Vol. 13. 1926. No. 4. — (5) Soil Sc. Vol. 8. 1919. No. 2. — (6) Colour Standards and Nomenclature — Redgeway, R. — 1912.

Strain No. 3.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

Description of colours taken from Redgeway (6).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, slightly raised and nodular. Dark olive gray round edge, cream colour in centre. A. M.: Ash gray. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Good, very wrinkled, Cream buff and Deep Slate Green. A. M.: Good, finely cratered. Pale olive gray. Pigment: Moderate, Cream colour to Naples yellow. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Very good, finely nodular. Massicot Yellow. A. M.: Very abundant. Mouse gray flecked with white. Pigment: Faint, olive buff. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, dry, unraised. Apricot yellow. A. M.: Absent. Pigment: Faint Marguerite yellow. (5) Dextrose Agar. Growth: Good, slightly raised. Ivory yellow to Massicot yellow. A. M.: Moderate, Pale smoke gray. Pigment: Absent. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, unraised, cream buff. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, slightly raised, finely nodular. Ivory yellow. (Clay colour from back.) A. M.: Moderate, on upper portion of growth only, smooth white. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, thin, dry, smoke gray. A. M.: Scanty, white to cartridge buff. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in stab: Good, densely villous. Liquefaction: Good, 15 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Good, raised, finely nodular. Cream buff. A. M.: Very good, pale neutral gray, flecked with white and mouse gray. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 15 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 40 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. On surface: Numerous pinhead colonies. A. M.: Neutral gray, good. In medium: Numerous pin head colonies on glass. Pale gull gray. At Bottom: Poor. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface: Good, large colonies raised and nodular. A. M.: Abundant, cartridge buff. In medium: Pinhead colonies on glass. Marguerite yellow. At bottom: Moderate. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Very good, thick pellicle, slightly nodular, marguerite yellow. A. M.: Abundant, cartridge buff. In medium and at bottom: Absent. Pigment: Absent. (4) Glucose Broth. On surface: Few colonies on glass. Ivory yellow. A. M.: Absent. In medium: Absent. At bottom: Good, large spongy colonies. Ivory yellow. Pigment: Faint, cream colour. (5) Nutrient Broth. On surface: Ivory yellow colonies on glass. A. M.: Scanty white. In medium: Absent. At bottom: Moderate, large spongy colonies. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Good, wrinkled.

Andover green. A. M.: Good, white to mouse gray, showing numerous concentric circles. Pigment: Moderate, olive buff. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Absent. Coagulation: Absent. Digestion of casein almost complete. Dull dark purple. (8) Tyrosinate reaction: Negative. (9) Anaerobic growth: Absent. (10) Growth at 37.5° C: Very good after 48 hours.

Strain No. 4.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, unraised. Pale green blue gray with areas of dark Tyrian blue and Thulite Pink. A. M.: Pallid neutral gray to pale green blue gray. Pigment: Moderate, dark Tyrian blue. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Very poor. (3) Glucose Synthetic Agar. Growth: Very poor, thin, transparent, colourless. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, unraised, very finely nodular. Violet gray and Rosolane purple (from back pallid neutral gray with areas of pale Vinaceous lilac and madder blue. A. M.: White, powdery. Pigment: Absent. (5) Dextrose Agar. Growth: Good, unraised, finely wrinkled, cartridge buff with areas of pinkish buff and old rose. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, pinhead colonies — cream buff (from back — pinkish buff). A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Good, slightly nodular. Ivory yellow at top of stroke shading to storm gray at base. A. M.: Absent. Pigment: Faint, Citrine drab. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Poor, dry, colourless to pallid neutral gray. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in stab: Moderate, filiform. Surface growth moderate. Liquefaction: Tubular — hollow funnel, 10 m.m. A. M.: White. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Good, spreading, raised, showing numerous fine wrinkles. Ochre red to Paynes gray. A. M.: White. Colour of Plug: Paynes gray to light Tyrian blue. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 18 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 40 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. On surface: Dusty colonies. A. M.: Moderate white. In medium: Star shaped colonies on glass. Pallid neutral gray. At bottom: Good, flaky. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface: Poor, pinpoint colonies. Drab gray. A. M.: Absent. In medium: Small colonies on glass, drab gray. At bottom: Good flaky. Drab gray. Pigment: Very faint pink. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Very poor, few dusty colonies. A. M.: Absent . In medium: Absent. At bottom: Moderate, Tilleul buff. Pigment: Absent. (4) Glucose Broth. On surface: Few pinhead colonies growing well into medium. Deep ring growth on glass, unraised, finely wrinkled. Pallid neutral gray to slate gray. A. M.: Pallid neutral gray. In medium: Moderate flaky, light buff. At bottom: Moderate flaky, light buff. Pigment: Absent. (5) Nutrient Broth. On surface: Deep band on glass. Slightly raised and wrinkled. Pallid neutral gray to ivory yellow. A. M.: Scanty, pallid neutral gray. In medium: Flaky.

At bottom: Very good, flaky ivory yellow. Pigment: Very faint blue. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Very good on surface, forming smooth skin. Violet gray to russet vinaceous. A.M.: Smooth, light gull gray. Pigment: Faint, light purplish gray. Hydrolysis: Three quarters of depth of liquid. (7) Brom-Cresol Milk. Growth: Good, forming deep finely wrinkled band on glass. Deep Paynes gray. A.M.: Absent. Coagulation: Absent. Digestion of casein: Good. Medium dark dull bluish violet. (8) Tyrosinate reaction: Negative. (9) Anaerobic growth: Absent after 3 weeks at 25° C. (10) Growth at 37.5° C.: Very good after 48 hours.

Strain No. 5.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Very good, thin, unraised. Deep Quaker drab. A.M.: Very good. Pallid neutral gray and drab gray. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Very good, split, skinlike, wrinkled and showing crater covered with a.m. Carob brown to aniline black. A.M.: Centre of craters dark olive gray, remainder white. Pigment: Good. Cinnamon. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Very good, very raised and acervate, coarsely nodular. Army brown to fawn colour. A.M.: Abundant. Iron gray and mouse gray flecked with white. Pigment: Moderate Army brown. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good. Pallid mouse gray with raised pinheads of aniline black. A.M.: Absent. Pigment: Absent. (5) Dextrose Agar. Growth: Moderate, slightly raised. Testaceous with buff pink areas. A.M.: Scanty pale olive gray to white. Pigment: Absent. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Poor, light grayish olive. A.M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, finely umbonate. Ivory yellow (clay colour to Sudan brown from back). A.M.: Abundant towards top of stroke — white. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, unraised, thin dry separate colonies. Pale drab gray. A.M.: Absent. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in stab: Good, densely villous. A.M.: Absent. Liquefaction: Tubular 15 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, raised umbonate. A.M.: Very good, white. Colour of plug: Mouse gray tinged with Ecru drab. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 12 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 41 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. On surface: Numerous small colonies. A.M.: Pallid neutral gray. In medium: Glass covered with small colonies. Pallid neutral gray. At bottom: Good. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface: Very good, numerous raised pinhead colonies showing central craters. Each nodule showing a ring free from a.m. A.M.: Pallid Quaker drab. In medium and at bottom: Poor. Pigment: Moderate wood brown. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Good, thick nodular growth, cartridge buff on glass. A.M.: Good white. In medium: Moderate, small colonies on glass, cartridge buff. At bottom: Moderate spongy. Pigment: Absent.

(4) Glucose Broth. On surface: Very poor. Few colonies on glass. Ivory yellow. A. M.: Absent. In medium: Absent. At bottom: Moderate large spongy colonies, ivory yellow. Pigment: Absent. (5) Nutrient Broth. On surface: Narrow raised band on glass. Saccardos umber edged with ivory yellow. A. M.: Good white to Tilleul buff. In medium: Absent. At bottom: Very good, nodular and jelly-like. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Very good. A. M.: Abundant, ash gray. Pigment: Moderate, drab. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol Purple Milk. Growth: Good, forming a deep band on glass. A. M.: Very scanty, white. Coagulation: Absent. Digestion of casein 5 m.m. Colour of digested zone: Dark heliotrope gray. (8) Tyrosinate Reaction: Negative. (9) Anaerobic growth: Absent. (10) Growth at 37.5° C.: Very good.

Strain No. 6.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Very good, raised and coarsely nodular. Mustard yellow to chamois. A. M.: Powdery, cartridge buff. Pigment: Faint, cream colour. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Very poor, ivory yellow. A. M. and Pigment: Absent. (3) Glucose Synthetic Agar. Growth: Very good, coarsely wrinkled and folded. Edge, deep colonial buff, centre buffy citrine. A. M.: Good, ivory yellow. Pigment: Good, deep colonial buff. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Thin, spreading dryish, Barium yellow. A. M.: Scanty, ivory yellow. Pigment: Faint, Chalcedony yellow. (5) Dextrose Agar. Growth: Very good, spreading, slightly raised and wrinkled. Cream buff. A. M.: Good, pale olive gray. Pigment: Absent or faint Massicot yellow. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Poor, transparent, pinpoint colonies, drab. (Light pinkish cinnamon from back.) A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, spreading, unraised, ivory yellow (yellow ochre from back). A. M.: Absent. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate transparent, colourless to light oilve gray. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in stab: Good villous. A. M.: Absent. Liquefaction: Saccate 5 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Good, spreading, unraised, slightly wrinkled. Isabella colour to chamois. A. M.: Absent. Colour of Plug: Slight discoloration. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 11 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 72 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. On surface: Very good, complete pellicle, very finely nodular, primrose yellow. A. M.: Good, ivroy yellow. In medium: Absent. At bottom: Moderate flaky. Pigment: Absent or faint Naples yellow. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface: Pellicle, smooth, sea foam yellow. A. M.: White. In medium: Numerous pinpoint colonies on glass. At bottom: Flaky primrose yellow. Pigment: Moderate, sea foam yellow. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Very good. Complete ring on glass, finely wrinkled. Ivory yellow. A. M.: Cartridge buff. In medium: Flaky.

At bottom: Flaky. Pigment: Faint ivory yellow. (4) Glucose Broth. On surface: Large wrinkled masses, ivory yellow. A. M.: Absent. In medium: Flaky colonies. At bottom: Moderate, fine tapioca, ivory yellow. Pigment: Absent. (5) Nutrient Broth. On surface: Absent. On glass good, complete ring, smooth moist, ivory yellow. In medium: Absent. At bottom: Flaky. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Moderate, large nodular colonies. Marguerite yellow. A. M.: Marguerite yellow. Pigment: Absent or faint cream buff. Hydrolysis: Almost complete. (7) Brom Cresol Milk. Growth: Very good, thick unraised incomplete pellicle growing well into medium. A. M.: Absent. Coagulation: Doubtful. Digestion of casein: Quarter of depth of medium — Manganese violet. (8) Tyrosinate Reaction: Negative. (9) Anaerobic growth: Absent. (10) Growth at 37.5° C.: Very good.

Strain No. 7.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, unraised. Deep Quaker drab. A. M.: Abundant, white strip in centre surrounded by mouse gray. Pigment: Absent or faint Sayal brown. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Very good, very raised. Drab gray (from back carob brown edged with salmon buff). A. M.: Abundant, very cratered, white, base of craters pinkish buff. Pigment: Very good cinnamon. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Very good, moderately raised, light drab and aniline black. A. M.: Mouse gray flecked with white and black spots. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Very good, dryish, Quaker drab with numerous raised spots of aniline black. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (5) Dextrose Agar. Growth: Good small colonies slightly raised. Testaceous. A. M.: Pale smoke gray. Pigment: Very faint. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, very slightly raised, cream colour to light buff. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, large umbonate masses, cartridge buff at base, deep brownish drab at top. A. M.: Good on upper portion of growth — white. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, pinhead colonies, pale drab gray. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in stab: Densely villous. No surface growth. A. M.: Absent. Liquefaction: Good. Infundibuliform 20 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, coarsely nodular. Older growth fawn colour, young growth cream buff. A. M.: Pale drab gray flecked with white. Colour of Plug: Light drab. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 12 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 50 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. On surface: Numerous single colonies, covered with A. M. A. M.: Pale mouse gray. In medium: Many large colonies attached to glass. Light drab. At bottom: Good, numerous separate colonies. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface: Good, large unraised spherical colonies. Vinaceous buff. A. M.: Good white. In medium: Few large colonies on glass.

Sayal brown. At bottom: Good. Pigment: Faint Sayal brown. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Good, forming thick skin, nodular, Avellaneous. A. M.: Good, white. In medium: Good, numerous pinhead colonies in glass. Avellaneous. At bottom: Good, large colonies and flakes. Pigment: Faint, Tilleul buff. (4) Glucose Broth. On surface: Absent. In medium: Absent. At bottom: Very good, spongy colonies. Ivory yellow. (5) Nutrient Broth. On surface: Heavy growth on glass (From back Avellaneous to Mikado brown). A. M.: Abundant, white. In medium: Absent. At bottom: Large tapioca. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Numerous colonies covered with A. M. and showing concentric circles. Black to Avellaneous. A. M.: Very good, white. Pigment: Good, clay colour. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good, thick nodular pellicle. A. M.: Moderate gray. Coagulation: Absent. Digestion of casein complete. Colour of digested zone: Dull dark purple. (8) Tyrosinate Reaction: Negative. (9) Anaerobic growth: Absent. (10) Growth at 37.5° C.: Very good.

Strain No. 17.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Very good, covered with A. M. Cartridge buff to Colonial buff. A. M.: Very good, Cartridge buff. Pigment: Absent or faint ivory yellow. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Good, thin, unraised. Cream colour. A. M.: Very good, powdery. Tilleul buff to white showing white areas. Pigment: Absent or faint cream buff. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Very good. Acervate in centre surrounded by fine marginal lines. Old gold. A. M.: Abundant. Edge Tilleul buff, centre white. Pigment: Absent. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Very good, finely nodular. Cream colour to marguerite yellow. A. M.: Showing fringe at edge of growth. White to pale olive buff. Pigment: Faint, cream colour. (5) Dextrose Agar. Growth: Very good, thin, dry, slightly wrinkled. Tilleul buff to cinnamon buff. A. M.: Giving a dry appearance to surface. White to cartridge buff. Pigment: Absent. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Poor, thin, unraised, dryish. Colourless to pale olive gray. A. M.: Scanty cartridge buff. Pigment: Very faint. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, slightly raised and nodular. Clay colour to tawny olive. A. M.: Good, cartridge buff. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Good, smoke gray, thin and spreading. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in stab: Densely villous. Surface growth absent. Liquefaction: Cupshaped. 10 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good. Finely wrinkled and nodular. A. M.: Very good. Pale pinkish cinnamon, later olive buff. Colour of Plug: Buffy brown, Tilleul buff and grayish olive. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 21 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 60 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. On surface: Poor, few dusty colonies. A. M.: Cartridge buff. In medium and at bottom: Absent. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution.

On surface: Few dusty colonies. A. M.: Scanty. In medium and at bottom: Absent. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Very good, thick pellicle. Deep olive buff. A. M.: Good, powdery cartridge buff. In medium: Numerous flaky and star shaped colonies. At bottom: Good, tinged with greenish brown. Pigment: Absent. (4) Glucose Broth. On surface: Very good. Thick, very twisted, skin finely nodular. Chamois. A. M.: Powdery cartridge buff. In medium: Absent. At bottom: Moderate, flaky. Pigment: Very faint. (5) Nutrient Broth. On surface: Very good, thick wrinkled pellicle. Cream colour, showing chamois areas. A. M.: Abundant, cartridge buff. In medium and at bottom: Absent. Pigment: Faint. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Thin pellicle of numerous round unraised colonies, with radiating lines. A. M.: Abundant, white to cartridge buff. Pigment: Moderate, cream buff. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Absent. Coagulation: Absent, digestion complete. Colour of digested zone: Raisin purple. (8) Tyrosinate Reaction: Negative. (9) Anaerobic growth: Absent. (10) Growth at 37.5° C.: Very good after 48 hours.

Strain No. 19.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, unraised, Vinaceous Buff (back). A. M.: Moderate, Tilleul buff. Pigment: Very faint. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, unraised, pale ochraceous buff (back). A. M.: Abundant, Tilleul buff. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Poor, thin, unraised, cartridge buff (back). A. M.: Poor, Tilleul buff. Pigment: Very faint, ivory yellow. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, unraised, colonial buff (back). A. M.: Good, ivory yellow. Pigment: Moderate ivory yellow. (5) Dextrose Agar. Growth: Very good, slightly raised, pinkish buff showing areas of clay colour. A. M.: Good, cartridge buff. Pigment: Faint, pinkish buff. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Poor, thin, unraised, colourless, Tilleul buff (back). A. M.: Absent. Pigment: Very faint. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, slightly raised, showing long ridges, split along the centre. Ochraceous tawny. A. M.: Resembling dried paint — Tilleul buff. Pigment: Moderate, golden brown. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Very thin, pin point colonies, smoke gray to olive buff. A. M.: Scanty, smoke gray. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in Stab: Good, densely papillate. No surface growth. Liquefaction: Cupshaped, 10 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, raised, finely wrinkled — worm cast. A. M.: Abundant, Tilleul buff. Colour of Plug: Drab. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 27.5 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 27.5 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. No growth. (2) Glycerine Synthetic Solution. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. No growth. (4) Glucose Broth. On surface: Thick, incomplete, pellicle very wrinkled, twisted. Cream buff to chamois from back. A. M.: Powdery cartridge buff. In medium: Absent. At bot-

tom: Good, jellylike, ivory yellow. Pigment: Moderate, light golden brown. (5) Starch Synthetic Solution. Growth: No surface growth, heavy bottom growth, white. A. M.: Moderate, Tilleul buff. Pigment: Absent. Hydrolysis: Complete. (6) Brom-Cresol-Milk. Growth: Very good on surface. A. M.: Scanty, white. Coagulation: Absent. Digestion of casein complete. Colour of digested zone: Roods violet to Auricula purple. (7) Tyrosinate Reaction: Negative. (8) Anaerobic growth: Absent. (9) Growth at 37.5° C.: Very good after 48 hours.

Strain No. 25.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, unraised, colourless. A. M.: Abundant, white. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, colourless to light buff. A. M.: Good, white to Tilleul buff. Pigment: Very faint. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, unraised, pale olive gray (back). A. M.: Absent. Pigment: Very faint. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, unraised, pinkish buff (back). A. M.: Good, white to Tilleul buff. Pigment: Absent. (5) Dextrose Agar. Growth: Very good, unraised "worm-casts". Ochraceous buff (back). A. M.: Good, cartridge buff with radiating lines. Pigment: Faint, light pinkish cinnamon. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, thin, unraised, smoke gray. Light buff (back). A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, raised undulate, deeply wrinkled, raw Sienna (back). A. M.: Very good, white. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, thin, dryish, pale neutral gray. A. M.: Scanty. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in Stab: Densely villous, surface growth absent. Liquefaction: Tubular, 14 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, raised into fine wrinkled ridges. A. M.: Good, Tilleul buff. Colour of Plug: Brownish olive shading to buffy brown. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 27 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 45 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. No growth. (2) Glycerine Synthetic Solution. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. No growth. (4) Glucose Broth. On surface: Very good, thick twisted and wrinkled skin, cream buff. A. M.: Very good, cartridge buff. In medium: Absent. At bottom: Poor. Pigment: Moderate, light golden brown. (5) Nutrient Broth. On surface: Very good, complete pellicle, slightly raised and nodular, cartridge buff (back). A. M.: Cartridge buff. In medium and at bottom: Absent. Pigment: Faint. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Good, separate pinpoint colonies. A. M.: Good, white. Pigment: Absent. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Very good, incomplete pellicle. A. M.: Absent. Coagulation: Absent. Digestion complete. Colour of digested zone: Dark dull purple. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic Growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good after 48 hours.

Strain No. 28.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, edge distinctly raised, not spreading, pale olive buff. A. M.: Abundant, olive buff. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, colourless, light buff. A. M.: Cartridge buff. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, dry, colourless. A. M.: Very scanty, white. Pigment: Absent. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, honey colour (back). A. M.: Deep olive buff, flecked with white. Pigment: Moderate, chamois. (5) Dextrose Agar. Growth: Very good, unraised, Sayal brown to clay colour (back). A. M.: Cartridge buff with areas of ivory yellow. Pigment: Faint, tawny olive. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, thin, colourless to drab gray. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, slightly raised, and very nodular. Hazel, chestnut brown base (back). A. M.: Good, Tilleul buff. Pigment: Good, hazel. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, thin, dry, smoke gray. A. M.: Very scanty, cartridge buff. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in Stab: Densely papillate, no surface growth. Liquefaction: Cupshaped, 8 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, very raised and nodular. A. M.: Very good, deep olive buff. Colour of Plug: Olive. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 12 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 30 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. No growth. (2) Glycerine Synthetic Solution. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. No growth. (4) Glucose Broth. On surface: Very good growth on glass, raised and very nodular Dresden brown (back). A. M.: Very good, white to cartridge buff. In medium: Small flocculent colonies, ivory yellow. At bottom: Poor. Pigment: Absent. (5) Nutrient Broth. On surface: Moderate, fairly nodular and wrinkled. Patchy ring growth. A. M.: Very good, light buff. In medium and at bottom: Absent. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Few small colonies on surface. Heavy bottom growth. A. M.: Good, pale olive buff. Pigment: Absent. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Absent. Coagulation: Absent. Digestion: Complete. Colour of digested zone: Raisin purple. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic Growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good after 48 hours.

Strain No. 33.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Very good, thin, unraised, Colonial buff to reed yellow colour (back). A. M.: Abundant, deep olive buff. Pigment: Moderate, olive buff. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Good, thin, colourless, cream colour (back). A. M.: Abun-

dant, deep olive buff. Pigment: Faint. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Very good, very raised, black to Sudan brown (back). A. M.: Abundant, deep olive buff. Pigment: Abundant, cinnamon brown to Dresden brown. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, unraised, olive yellow to reed yellow (back). A. M.: Giving a dry appearance, Marguerite yellow. Pigment: Good, reed yellow. (5) Dextrose Agar. Growth: Good, unraised, dark olive buff (back). A. M.: Abundant, ivory yellow. Pigment: Moderate, Massicot yellow. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, very thin, unraised, colourless. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, single small raised colonies. Argus brown (back). A. M.: Very good, white to cartridge buff. Pigment: Moderate, Indian brown. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, thin, dryish, pale olive buff. A. M.: Very scanty, white. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth: Very good, densely papillate, surface growth absent. Liquefaction: Cupshaped, 10 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, raised, nodular. A. M.: Abundant, olive buff. Colour of Plug: Deep olive shading to citrine drab. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 12 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 70 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. No growth. (2) Glycerine Synthetic Solution. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Very good, pellicle thick and twisted. A. M.: Good, ivory yellow. In medium: Flaky colonies in medium and on glass. At bottom: Moderate. Pigment: Moderate, Massicot yellow. (4) Glucose Broth. On surface: Thick, twisted and nodular pellicle. Citrine drab (back). A. M.: Pale olive buff. In medium: Absent. At bottom: Good, spongy. Pigment: Moderate, Isabella colour. (5) Nutrient Broth. On surface: Thick, finely nodular. Good growth on glass, old gold. A. M.: Very good, cartridge buff. In medium: Few small colonies. At bottom: Good, jellylike. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Very good, thick T — Y shaped rolls. A. M.: White with many craters. Pigment: Very good, old gold to olive lake. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Very good. A. M.: Absent. Coagulation: Absent. Digestion of casein complete. Colour of digested zone: Raisin purple. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good after 48 hours.

Strain No. 34.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, transparent, colourless. A. M.: Abundant, white. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Moderate, very thin, colourless. A. M.: Very scanty, white. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Poor, pale orange yellow. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Poor, thin, colourless, showing spots of chamois. A. M.: Moderate cartridge buff. Pigment: Absent. (5) Dextrose Agar. Growth: Moderate, separate

colonies, cream buff. A. M.: Good, white. Pigment: Absent. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Absent or very poor. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, coarsely nodular, Raw Sienna (back). A. M.: Velvety, white to light buff. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Very poor, Tilleul buff (back). A. M.: Cartridge buff. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in Stab: Good, Villous, no surface growth. Liquefaction: Cupshaped, 10 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. No growth. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 11 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 11 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. No growth. (2) Glycerine Synthetic Solution. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. No growth. (4) Glucose Broth. On surface: Good ring, raised and nodular, cartridge buff and chamois. A. M.: Absent. In medium: Absent. At bottom: Good, finely flocculent. Pigment: Absent. (5) Nutrient Broth. On surface: Large separate colonies on glass. Cartridge buff to cream buff. A. M.: Very scanty. In medium: Absent. At bottom: Very poor, flocculent. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: On surface, good, Avallaneous. A. M.: Good, white. Pigment: Good, clay colour. Hydrolysis: Almost complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good, producing brown ring just above medium. A. M.: Abundant, white. Coagulation: Absent, digestion of casein complete. Colour of digested zone: Rood's violet. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic Growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good after 48 hours.

Strain No. 37.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, colourless, tinged with light drab. A. M.: Scanty, cartridge buff. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, dry, Vinaceous buff to Avellaneous (back). A. M.: Scanty, pale vinaceous fawn. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Good, colourless to drab gray. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, chamois (back). A. M.: Ivory yellow flecked with white. Pigment: Moderate cream buff. (5) Dextrose Agar. Growth: Good, with raised lines, Sayal brown. A. M.: Tilleul buff. Pigment: Absent. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, thin, colourless to Tilleul buff. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very slightly raised, slightly nodular, split. Black to Sudan brown (back). A. M.: Very good. Cartridge buff. Pigment: Good, chestnut. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Thin, unraised, dry, pale olive gray. Tilleul buff (back). A. M.: Absent. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in Stab: Beaded. Surface growth absent. Liquefaction: Cupshaped, 15 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, very raised and nodular. Mummy brown. A. M.: Very good, deep olive buff. Colour of Plug: Dark olive. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 15 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 38 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. No growth. (2) Glycerine Synthetic Agar. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. No growth. (4) Glucose Broth. On surface: Thick, incomplete pellicle, very raised and nodular, narrow raised band on glass, brownish olive. A. M.: Good olive buff. In medium: Absent. At bottom: Very good, ivory yellow. (5) Nutrient Broth. On surface: Good ring growth on glass, Isabella colour (back). A. M.: Good, ivory yellow. In medium: Absent. At bottom: Good. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Agar. Growth: Very poor, heavy bottom growth. A. M.: Scanty, white. Pigment: Absent. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Absent. Coagulation: Absent. Digestion almost complete. Colour of digested zone: Raisin purple. (8) Tyrosinate Reaction: Negative. (9) Anaerobic Growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good.

Strain No. 41.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, colourless. A. M.: Abundant. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, colourless to light buff. A. M.: Good, white. Pigment: Absent. (3) Glucose Synthetic Agar. Growth: Poor, colourless. A. M.: Moderate, white. Pigment: Absent. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, cream colour (back). A. M.: Good, white. Pigment: Absent. (5) Dextrose Agar. Growth: Poor, ivory yellow. A. M.: Moderate, white. Pigment: Absent. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Good, slightly raised, ivory yellow. A. M.: Abundant, white. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, dome-shaped colonies with central depression, Chamois to antimony yellow (back). A. M.: Good, white. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, large separate colonies, very raised. Cartridge buff. A. M.: Good, white. Pigment: Absent. (9) Gelatine. Growth in Stab: Poor, beaded. Liquefaction and Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Good, slightly raised, finely nodular. A. M.: Good, white. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 5 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 5 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. No growth. (2) Glycerine Synthetic Solution. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. No growth. (4) Glucose Broth. Growth on surface: Good, thick, wrinkled mass. A. M.: Ivory yellow. In medium: Absent. At bottom: Good, spongy. Pigment: Moderate, pale golden brown. (5) Nutrient Broth. On surface and in medium: Absent. At bottom: Moderate, ivory yellow. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Absent. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Good, white. Coagulation: Absent. Digestion complete. Colour of digested zone: Cotinga purple. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good.

Strain No. 44.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, unraised, cream colour (back). A. M.: Scanty, ivory yellow. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Good, thin, transparent, spreading, cream colour to Naples yellow (back). A. M.: Fringe round growth, white. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Moderate, thin, dry, pale olive gray. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, Colonial buff. A. M.: Moderate, ivory yellow. Pigment: Moderate, cinnamon buff. (5) Dextrose Agar. Growth: Good, unraised, pale olive buff. Cinnamon buff to clay colour (back). A. M.: Good, pale olive buff to ivory yellow. Pigment: Faint, Avellaneous. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, thin, colourless to cinnamon drab. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, raised and wrinkled, Argus brown to Sudan brown (back). A. M.: Abundant, white to Tilleul buff. Pigment: Good, hazel. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, very thin, transparent, colourless. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (9) Gelatine. In Stab: Very good, filiform, no surface growth. Liquefaction: Tubular, 12 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, very raised, finely nodular and wrinkled, olive lake. A. M.: Very good, ivory yellow. Colour of Plug: Olive shading to light brownish olive. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 20 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 35 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. No growth. (2) Glycerine Synthetic Solution. No growth. (3) Dextrose Synthetic Solution. No growth. (4) Glucose Broth. On surface: Very thick, wrinkled and twisted pellicle, Isabella colour and light brownish olive. A. M.: Very good, cartridge buff. In medium: Absent. At bottom: Good. Pigment: Deep golden brown beneath growth. (5) Nutrient Broth. On surface: Pellicle nodular and finely wrinkled, good ring on glass, old gold. A. M.: Cartridge buff. In medium: Few flaky colonies. At bottom: Moderate, flaky. Pigment: Faint, golden brown. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Very poor. A. M.: Good, white. Pigment: Absent. Hydrolysis: Poor. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Moderate, white. Coagulation: Absent. Digestion of casein complete. Colour of digested zone: Raisin purple. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic Growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good.

Strain No. 45.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Good, thin, unraised, light olive gray (back). A. M.: Good, mouse gray flecked with white. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Very

good, very raised, chamois with honey yellow and buffy olive areas. A. M.: Abundant, neutral gray flecked with white. Pigment: Good, cream buff to chamois. (3) Glucose Synthetic Agar. Growth: Very good, very raised, Massicot yellow. A. M.: Abundant, ash gray flecked with white and black spots. Pigment: Moderate, ivory yellow. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, thin, dryish, yellow ochre to mustard yollew. A. M.: Absent. Pigment: Faint, Marguerite yellow. (5) Dextrose Agar. Growth: Very good, raised, Marguerite yellow and Colonial buff. A. M.: Smoke gray flecked with white. Pigment: Faint, light olive gray. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Moderate, unraised, deep olive buff (light buff, back). A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, finely nodular, light Vinaceous fawn and Avellaneous. A. M.: Scanty, white to pale pinkish buff. Pigment: Faint, Ochraceous tawny. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, thin, light olive gray. A. M.: Moderate, pale olive buff. Pigment: Absent. (9) Gelatine. In Stab: Very good, densely villous, no surface growth. Liquefaction: Very good, infidubuliform, 25 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very raised, wrinkled and nodular, primrose yellow and cinnamon buff. A. M.: Very good, gull gray. Colour of Plug: Cinnamon buff to pinkish buff. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 18 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 52 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. On surface: Small dusty colonies. A. M.: Pallid neutral gray. In medium: Small pale smoke gray colonies on glass. At bottom: Moderate. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface: Very good, small raised colonies. A. M.: Pale vinaceous fawn. In medium: Pinhead colonies on glass. At bottom: Good. Pigment: Moderate, cream buff. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Very good pellicle, light Vinaceous fawn. In medium: Numerous small colonies. At bottom: Moderate. Pigment: Faint, Massicot yellow. (4) Glucose Broth. On surface: Narrow ring on glass, chamois. A. M.: Scanty. In medium: Star shaped colonies on glass, ivory yellow. At bottom: Good. Pigment: Absent. (5) Nutrient Broth. On surface: On glass very good, light Ochraceous salmon. In medium: Absent. At bottom: Good. Pigment: Good, Ochraceous tawny. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Very good, thick pellicle, nodular. A. M.: Abundant, ash gray flecked with white. Pigment: Moderate, pale olive buff. Hydrolysis: Complete. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Absent. Coagulation: Absent. Digestion of casein almost complete. Colour of digested zone: Indian purple. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good.

Strain No. 48.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Poor, thin, transparent, rosepink. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Poor, thin, transparent. A. M.: Absent.

Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Agar. Growth: Very good, raised, wrinkled and nodular. Mineral red (Brick-red, back). A. M.: Pallid neutral gray to pale Rhodonite pink. Pigment: Good, Sudan brown. (4) Calcium Malate Glycerine Agar. Growth: Good, spreading, unraised (Argus brown, back). A. M.: White to Venetian pink. Pigment: Very good, Argus brown. (5) Dextrose Agar. Growth: Good, spreading vinaceous (Back, old rose with centre of Hay's maroon). A. M.: Good, velvety white. Pigment: Ivory yellow. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Good, slightly raised, dry, old rose. A. M.: Scanty, flesh pink. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Good, spreading, folded, ivory yellow to buffy brown. A. M.: Absent. Pigment: Very good, Prout's Brown. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Good, unraised, dry. Corinthian pink. A. M.: Scanty, white. Pigment: Absent. (g) Gelatine. In Stab: Poor, star shaped colonies. Liquefaction: Softening of gelatine. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, spreading, slightly raised, and very finely wrinkled. A. M.: Very good, white, light purplish gray, with areas of purplish Vinaceous. Colour of Plug: Hair brown to Fuscous. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 15 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 36 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. Growth on surface: Absent. In medium: Absent. At bottom: Moderate, flocculent. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface and in medium: Absent. At bottom: Good, large separate colonies, flesh pink with old rose centre. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Poor, Helebore red. In medium: Moderate, star shaped colonies on glass. Persian lilac. At bottom: Good, Persian lilac. Pigment: Absent. (4) Glucose Broth. On surface: Absent, incomplete ring, raised and wrinkled. Nopal red with cinnamon buff margin. In medium: Absent. At bottom: Large spongy colonies. Pigment: Very good, deep golden brown. (5) Nutrient Broth. On surface: Absent. In medium: Absent. At bottom: Very good. Pigment: Very good, very deep golden brown. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Poor, some ring growth, rose red. Bottom growth good. A. M.: Livid pink. Pigment: Absent. Hydrolysis: Poor. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Deep incomplete ring, pale purplish gray to neutral red. A. M.: Absent. Coagulation: Absent. Colour of medium: Storm gray. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic Growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good.

Strain No. 54.

Cultural Characters (after three weeks at 25° C.).

A. Solid Media.

(1) Saccharose Synthetic Agar. Growth: Very good, thin, light olive gray (back). A. M.: Very good, mouse gray and white. Pigment Absent. (2) Glycerine Synthetic Agar. Growth: Very good, raised, Vandyke brown to Natal brown. A. M.: Moderate, drab gray. Pigment: Good, honey yellow to auburn. (3) Glucose Synthetic Agar. Growth: Very good, very raised, black to Argus brown (back). A. M.: Abundant, mouse gray flecked with white. Pigment: Abundant, old gold. (4) Cal-

cium Malate Glycerine Agar. Growth: Very good, thin, slightly raised, Sayal brown to hazel. A. M.: Scanty, white. Pigment: Good, cinnamon buff. (5) Dextrose Agar. Growth: Good, slightly wrinkled, Tilleul buff to Avellaneous. A. M.: Moderate, ash gray. (6) Tyrosinate Agar. Growth: Good, smoke gray. A. M.: Absent. Pigment: Absent. (7) Nutrient Potato Agar. Growth: Very good, unraised, spreading, smoke gray. A. M.: Moderate, white. Pigment: Absent. (8) Egg Albumen Agar. Growth: Moderate, slightly raised, slightly nodular, smoke gray. A. M.: Absent or very scanty. Pigment: Absent. (9) Gelatine. In Stab: Good, densely villous, surface growth absent. Liquefaction: Moderate, Infidubuliform 20 m.m. Pigment: Absent. (10) Potato Plug. Growth: Very good, slightly raised and nodular. A. M.: Pale smoke gray, flecked with white. Colour of Plug: Chaetura drab to Avellaneous. (11) Starch Plate. Diameter of growth: 20 m.m. Diameter of hydrolytic zone: 40 m.m.

B. Liquid Media.

(1) Saccharose Synthetic Solution. On surface: Very good, large raised colonies, mouse gray. A. M.: Light mouse gray. In medium: Pinhead colonies on glass. At bottom: Absent. Pigment: Absent. (2) Glycerine Synthetic Solution. On surface: Moderate, pinhead colonies, raised centres. A. M.: White. In medium: Small pinhead colonies on glass. At bottom: Good. Pigment: Absent. (3) Dextrose Synthetic Solution. On surface: Very good, thick pellicle, cinnamon buff. In medium: Good, colonies on glass. At bottom: Very good. Pigment: Faint, Massicot yellow. (4) Glucose Broth. On surface: Absent, on glass poor. In medium: Very good, spongy colonies. At bottom: Very good, large spongy colonies. Pigment: Absent. (5) Nutrient Broth. On surface: Good, thick ring, ivory yellow. A. M.: Cartridge buff. In medium: Absent. At bottom: Moderate, flaky. Pigment: Absent. (6) Starch Synthetic Solution. Growth: Very good, wrinkled and rolled. A. M.: White, centre of colonies free from A. M. Pigment: Very good, hazel to Ochraceous tawny. Hydrolysis: Complete after 7 days. (7) Brom-Cresol-Milk. Growth: Good. A. M.: Scanty. Colour of digested zone: Auricula purple. (8) Tyrosinate Reaction. Negative. (9) Anaerobic growth. Absent. (10) Growth at 37.5° C. Very good.

Nachdruck verboten.

The Comparative Growth Rates of Rhizobium meliloti and Rhizobium japonicum.

II. Quantitative Studies[1]).

[Contribution from the Soil Bacteriological Laboratory, Iowa Agricultural Experiment Station.]

By **R. H. Walker, D. A. Anderson and P. E. Brown**[2]).

With 22 figures in the text.

It was pointed out in a previous paper (9) that there is apparently considerable difference in the rate of growth, under similar conditions of two species of legume bacteria, Rhizobium meliloti and Rhizobium japonicum. This conclusion was drawn from qualitative tests, in which observations were made of the comparative growth of the organisms on the surface of solid media and also in liquid cultures where the amount of growth was estimated by determining the comparative turbidity of the cultures at regular intervals. Such methods for determining the rate of growth of bacteria are admittedly only qualitative in nature, and the results secured should not be interpreted too broadly until they are substantiated with data of a quantitative nature. For this reason, the qualitative studies of the rate of growth of the legume bacteria were followed by measurements of a more exact nature. In these tests the number of living cells in the various cultures tested was estimated at intervals. From data thus secured the rates of growth of the organisms in the cultures were determined. In this paper there are presented the results of these studies, showing the comparative rates of growth of Rhizobium meliloti and Rhizobium japonicum in media with either glucose or mannitol as the carbohydrate source, and with nitrate or atmospheric nitrogen as the nitrogen source.

Experimental.

In the preliminary qualitative studies of the comparative rates of growth of Rhizobium meliloti and Rhizobium japonicum, it was quite definitely shown that Rhizobium meliloti produced turbidity in liquid cultures considerably more rapidly than did Rhizobium japonicum. The diffences were correlated very closely with the amount of growth produced on the surface of solid media. It was suggested, however, that differences in growth rate as judged from turbidity measurements, or accumulation of slime on the surface of solid media, may be apparent rather than real. It is entirely possible that the variations in turbidity may have been due to differences in the ability of the organisms to produce gum rather than to inherent differences in their power

[1]) Journal Paper No. B 54 of the Iowa Agricultural Experiment Station, Ames, Iowa.

[2]) The authors take this opportunity to thank Dr. R. E. Buchanan for the suggestions and criticisms offered in the preparation of this manuscript.

to grow under the particular conditions. It was purposed, therefore, to determine the rate of growth of the organisms by direct measurement of the numbers of organisms present in the cultures at regular intervals instead of by measuring a product of their growth and then estimating the rate of growth indirectly.

As a working basis for outlining the experimental work and for interpreting the data secured, Buchanan's (3) concept of the life phases in a bacterial culture was utilized. He has shown that if the logarithms of the numbers of viable organisms in an ideal culture are plotted against time, a curve of the type shown in figure 1 may be secured. He has shown further that this curve may be logically divided into a number of growth phases, each showing different characteristics of growth by the organisms.

The rate of growth as interpreted from such a curve may be expressed in terms of any one or all of the following terms: first, the number of generations in a given length of time, second, the average generation period which may be defined as the length of time required for the number of organisms in the growing culture to double, and third, the velocity coefficient of the rate of growth which is the rate of increase per cell.

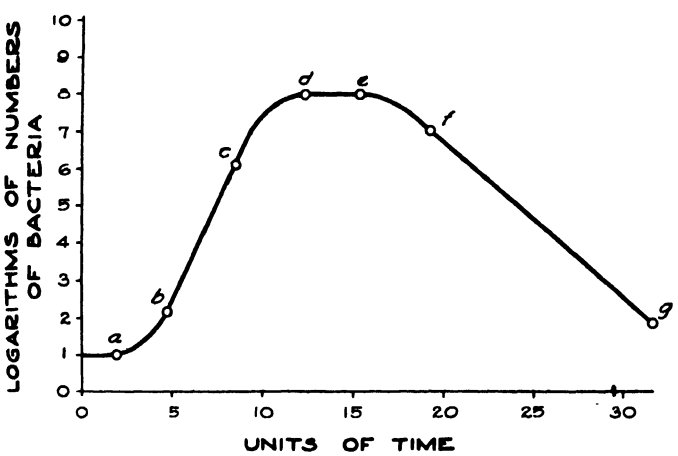


Fig. 1. Diagrammatic plot of logarithms of numbers of bacteria present in a culture. (After Buchanan.)

In the initial stationary phase of growth, the organisms do not increase in numbers, and hence the generation time is infinitely large and the number of generations and velocity coefficient of growth are zero. It is not possible, therefore, to make comparisons of the rate of growth in this period. In the next phase when the organisms are beginning to multiply, the generation time is gradually decreasing, the number of generations is increasing, and the velocity coefficient of the rate of growth is decreasing. To compare rates of growth during this period would require complicated mathematical calculations and would not be entirely satisfactory.

In the logarithmic period of growth, the organisms have attained their maximum rate of multiplication. The generation time has reached the minimum, the number of generations for a given length of time is maximum, and the velocity coefficient of the rate of growth is at its minimum value. Theoretically, during this period of growth the organisms multiply in a geometric ratio. The generation time and the velocity coefficient of growth, therefore, become constant values, and hence are ideal expressions of the rate of growth for comparative purposes. As the rate of growth increases, the generation time decreases and the velocity coefficient of rate of growth

increases in direct proportion. Thus, the generation time varies inversely and the velocity coefficient varies directly with the rate of growth.

The phase of negative growth acceleration and the maximum stationary phase offer the same difficulties for comparing rates of growth as the first two phases, and inasmuch as the subsequent phases of the growth curve deal primarily with the death of the organisms in the culture, these will not be taken into consideration.

In the work reported here an attempt was made to secure data on the numbers of legume organisms while they were in the logarithmic phase of their growth in order that direct comparisons of rates of growth could be made.

Methods.

The difficulties involved in making accurate determinations of the numbers of legume bacteria in a growing culture at various intervals of times were clearly recognized. In the first place, a suitable culture medium for the growth of the organisms must be employed. Besides furnishing the proper nutrients, this medium should be of such a nature that the production of gums and slimes will be at a minimum. It is well known that the legume root nodule bacteria produce considerable amounts of gum in certain media, but it has been shown by Buchanan (2) that the amount of gum produced may be reduced considerably by modifying the composition of the medium. In developing the methods of procedure for these studies these points were kept in mind.

It was thought that a medium simulating soil conditions would serve best. Hence, growth cultures were made up of soil and also of sand to which a nitrogen-free nutrient solution as described below was added until the moisture content was about 60 percent of the saturation capacity. The growth in the soil cultures was not at all satisfactory, but there were some indications that some modification of the sand culture might prove useful. Other tests were conducted in which the organisms were grown in flasks containing 40 grams of sand and 100 cc. of the nutrient solution. Growth in these cultures seemed to be quite satisfactory and a number of growth rate determinations were made in the sand cultures.

This type of culture, however, presented one difficulty that was responsible for considerable variation in the data secured. Using such a culture consisting of 40 grams of sand and 100 cc. of the nutrient solution, it is impossible to withdraw samples for dilution and counting at various intervals of time. Consequently, a series of such cultures necessarily had to be set up and inoculated with an uniform inoculum of the same organism in each test. Sufficient cultures were prepared so that fresh duplicate cultures could be taken for analysis each time a determination of numbers was made. In order to secure accurate results by such a method, it would be necessary to have uniform inoculation and rate of growth in all replicate cultures. Theoretically this should be possible, but in spite of the fact that unusual care was exercised to secure uniform inoculation of all the cultures and to standardize the subsequent steps of the procedure, there was considerable variation in the data secured in most tests. Due to the variability of the data secured, it was considered advisable to modify the method of procedure in some way so as to reduce the errors resulting from the methods employed.

In the procedure finally adopted, the organisms were grown in liquid cultures from which samples were withdrawn for analysis at various intervals. The advantage of having sand in the cultures to break up the gum and clumps of bacteria at sampling time was not overlooked. Hence, 10 gram portions of sand were added to each of the culture flasks along with 200 cc. of nutrient solution. The basic nutrient solution had the following composition.

Carbohydrate	10.0 grams
Calcium carbonate	5.0 „
Dipotassium phosphate	0.5 „
Magnesium sulfate	0.2 „
Sodium chloride	0.1 „

In some tests mannitol was the carbohydrate employed, while in others glucose was used. Organisms were grown in this medium and also in a medium of similar composition except that nitrate nitrogen was added in the form of potassium nitrate at the rate of 0.5 gram per liter of solution.

The sand added to the medium was a pure white silica sand that had been thoroughly washed. It aided greatly in breaking up clumps of bacteria and gum when the flasks were shaken previous to sampling. The media were placed in one-liter round-bottom distilling flasks having a short neck and wide mouth. This type of flask was especially well suited for the experimental work as the wide mouth of the flask made it convenient to make the inoculation and to withdraw samples at various intervals. It also permitted of large surface exposure and good aeration of the medium. The inoculated and control cultures were incubated in a Freas electrically heated and controlled water bath in which the temperature was maintained at 28 $\pm$ 0.5° C., throughout the incubation period.

Some difficulty was encountered at first in securing inocula with the proper number of bacteria. In cases where the number of organisms in the inocula were comparatively small, very little or no growth resulted in the cultures; and where the initial numbers were too large a satisfactory logarithmic phase of growth was not secured, and it was necessary to make higher dilutions. The inocula used in the tests reported were prepared in the following manner. A loopful of organisms taken from a young and vigorously growing agar slant culture was placed into 100 cc. of liquid yeast-mannitol medium. After this culture had grown for 24 hours the flasks were shaken vigorously and a one cc. portion was transferred to a similar portion of liquid medium. This culture was then incubated for 24 hours, after which 10 cc. portions were used to inoculate the cultures to be studied. By this procedure the numbers of organisms in the growth cultures at the beginning of the experiments were about right for satisfactory growth and counting. Furthermore, the organisms introduced were apparently in the logarithmic phase of growth, for in most cases they began to multiply in a geometric ratio as soon as they were transferred to the growth rate culture. In no case was any pronounced initial stationary or lag phase noted when the data were analyzed.

Before withdrawing samples from the growth rate cultures they were vigorously shaken for exactly one minute. One cc. of the culture was withdrawn and diluted by placing into 99 cc. of sterile physiological salt solution. Further dilutions were made by transferring 10 cc. portions to 90 cc. water blanks. Between transfers in each case the diluted cultures

were vigorously shaken for one minute. This procedure was rigidly adhered to throughout the work to insure uniformity of procedure and to decrease the possibilities for error due to a lack of uniformity.

After the dilutions were made 1 cc. portions of each of the appropriate dilutions were transferred to triplicate petri dishes. Yeast-mannitol agar medium was then poured into the plates and the plates were rotated to insure uniform distribution of the organisms in the agar. The plates were incubated at 28° C., until the colonies were sufficiently well developed to facilitate counting. This required from 5 to 7 days in most cases.

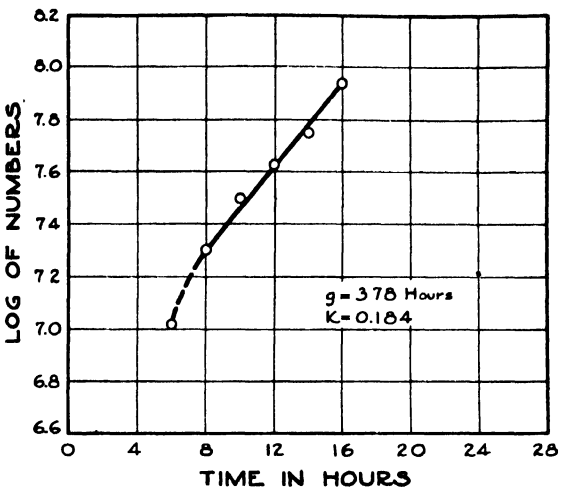


Fig. 2. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in mannitol solution with nitrate nitrogen.

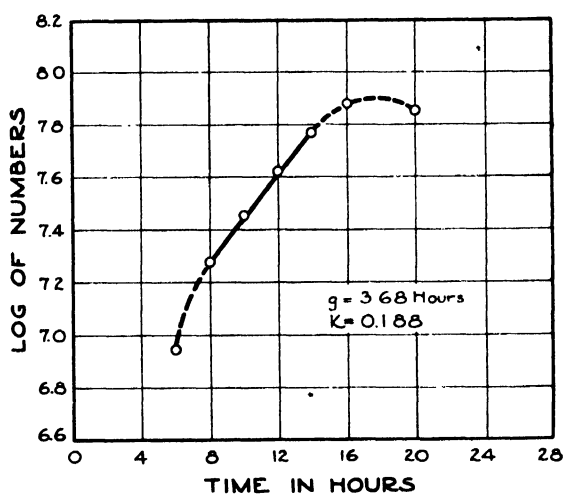


Fig. 3. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in mannitol solution without added nitrogen.

Throughout the work special attention was given to control cultures for a check on the method and technic. Uninoculated culture media similar to those in which the organisms were grown were incubated along with the inoculated cultures. These were sampled and samples were diluted and plated in the same manner as the inoculated cultures. Uninoculated agar plates were also prepared as a check against the technic. All the work was conducted in a closed room which was free from dust and air currents. As a result of the special attention given to standardization of procedure and prevention against contamination, unusually good agreement was secured in duplicate determinations and there was very little contamination either in the growth rate cultures each of which had to be sampled several times, or in the agar plates where the organisms were grown for counting.

Although the agar plate method of counting is more cumbersome and requires more time and labor than the direct microscopic method, it was selected for these studies because it yields information concerning the num-

bers of viable cells in a culture rather than total numbers of organisms including dead ones. Wilson and Kullman (11) recently reported studies on methods for determining the numbers of Rhizobium and concluded that fairly satisfactory results could be secured by using the agar plate method if special care is taken to maintain a standardized technic. They recommended that as many parallel plates as possible be made without introducing an undue time factor, and they suggested that the variation among parallel plates could be partially eliminated without bias by discarding any one plate that is markedly different from its replicates. The data examined by them indicated that the variations noted in the remaining plates could have arisen by chance alone. While the method of procedure adopted in the work reported here was in use prior to the publication of the work of Wilson and Kullman it is essentially the same as that which they recommended. Under the conditions of the experiments reported here, exceptionally good agreement was obtained between triplicate plates and the data were quite satisfactory.

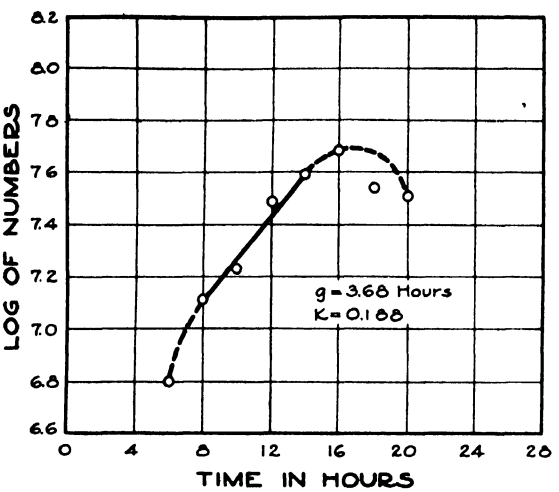


Fig. 4. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in mannitol solution without added nitrogen.

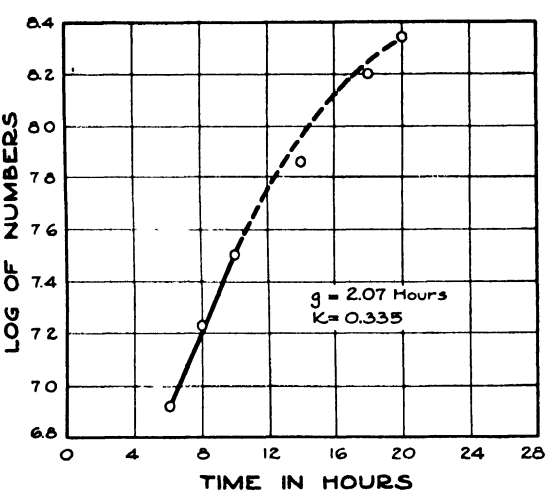


Fig. 5. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in glucose solution with nitrate nitrogen.

Growth curves were drawn from the data secured by plotting the logarithms of numbers of viable organisms against time. In drawing the curves special attention was given to locating the logarithmic period of growth. This, of course, is represented by the section on the curves where the points fall in a straight line, and in order to definitely designate this portion of the curve, a straight continuous line was drawn through these points. The remaining parts of the curve, which represent other phases of growth were drawn with dotted lines and in all cases they are curved.

The generation time and velocity coefficient of growth of the organisms were calculated for the period when they were growing logarithmically.

The generation time was calculated from the following formula as presented by Buchanan (3).

$$g = \frac{t \times \log 2}{\log b - \log B}$$

where g = generation time,
t = time in hours during the logarithmic period,
B = the number of viable cells in the culture at the beginning of the logarithmic period of growth,
b = the number of viable cells in the culture at the end of the logarithmic period of growth.

The velocity coefficient of growth which is represented by K is usually determined from the following formula

$$K = \frac{\ln b - \ln B}{t}$$

where natural logarithms to the base e are employed instead of logarithms to the base 10 as in the calculation of generation time. In cases where g has already been determined, K can be more readily calculated by the following formula

$$K = \frac{\ln 2}{g}.$$

Inasmuch as g had already been calculated for the data, the latter formula was used to calculate K.

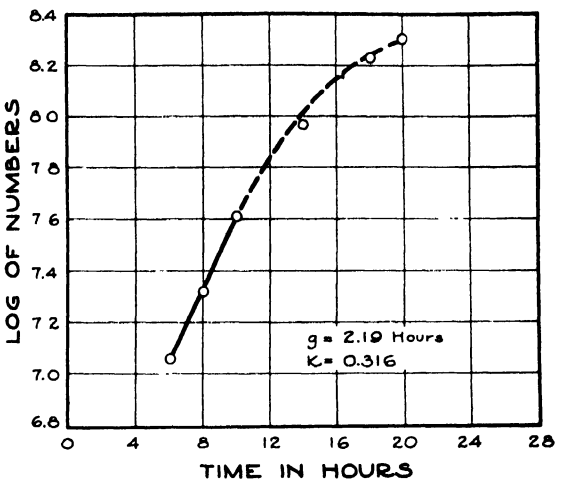


Fig. 6. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in glucose solution with nitrate nitrogen.

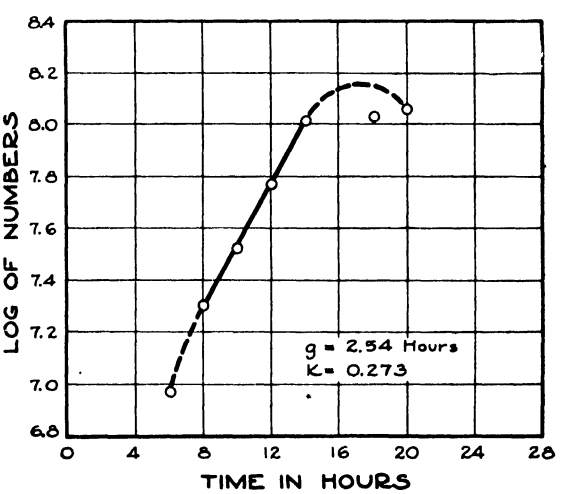


Fig. 7. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in glucose solution without combined nitrogen.

The organisms studied in these experiments were two strains of alfalfa root nodule bacteria, Rhizobium meliloti 130 and 131, and two strains of soybean root nodule bacteria, Rhizobium japonicum 415 and 416. These cultures were secured from Dr. I. L. Baldwin of the University of Wisconsin, and they had been found, previously, to differ physiologically. Stevens (8) found strain 130 to be more efficient than strain 131 in fixing nitrogen when grown symbiotically with the host

plant. Similarly, Wright (12) found strain 416 to be more efficient than strain 415. The more efficient strains were classed as A strains and the others as B strains. This physiological difference was also found to be correlated with other characters such as agglutination reactions and cultural characteristics. Since receiving these organisms they have not been tested for efficiency in nitrogen fixation, but they have been tested for ability to produce nodules on the host plant a number of times with positive results in all tests. All cultural and microscopic tests indicated that they were pure cultures at the time they were used in work reported here.

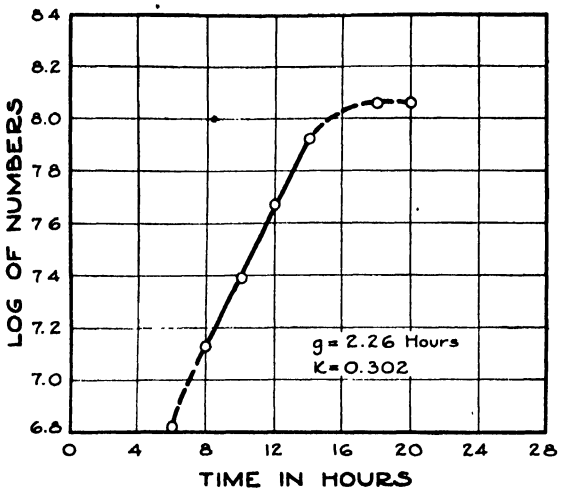


Fig. 8. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in glucose solution without combined nitrogen.

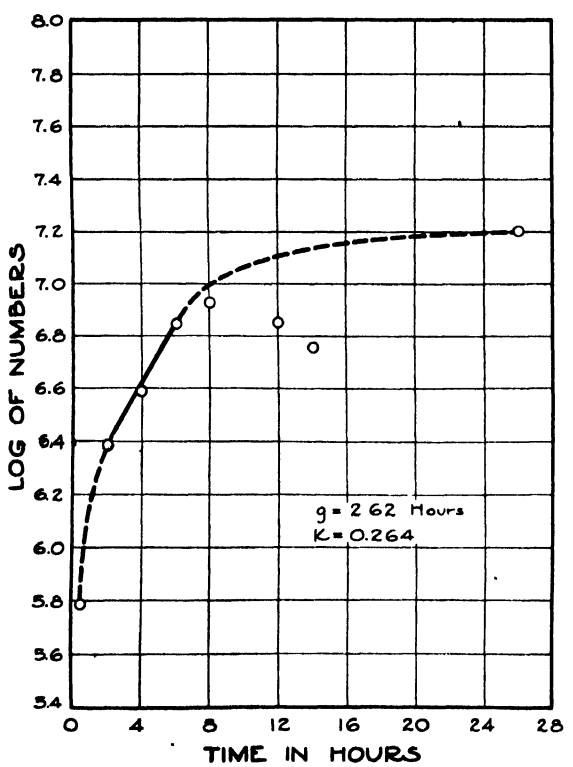


Fig. 9. Growth of Rhizobium meliloti, strain 131, in mannitol solution with nitrate nitrogen.

Results.

In the first test, four growth flasks were prepared and inoculated as described. Mannitol was added to all cultures as the source of carbohydrate, and to two of the cultures nitrate nitrogen was added. Thus, there were duplicate cultures without any added combined nitrogen and with nitrate nitrogen. These were all uniformly inoculated with Rhizobium meliloti strain 130. The inoculation was made at midnight, and the first samples were withdrawn for dilution and plating at 6 o'clock the next morning. Thus, 6 hours elapsed from the time of inoculation until the first determination of numbers was made. Subsequent determinations were made at intervals of 2 hours.

The preliminary studies had shown that if or-

ganisms in their logarithmic phase of growth were transferred to the growth cultures they started to grow logarithmically in the new cultures with very little lag. Furthermore, it was shown that this period of growth lasted for only a few hours. Consequently, the sampling was started soon after inoculation, 6 hours in the first test, and continued at relatively short intervals of time. In most of the work reported in the literature where the growth of Rhizobium has been studied, samples were taken at intervals of 12 or 24 hours. It has been very definitely shown that intervals of such length between sampling periods are not suitable for securing data concerning the growth of Rhizobium during the logarithmic period of growth when grown in media such as those used in these experiments.

The results secured in the first test are shown graphically in figs. 2, 3 and 4. Since one of the flasks containing nitrate nitrogen became slightly contaminated before the experiment was finished, the data have not been plotted.

Fig. 2 shows the rate of growth of Rhizobium meliloti, strain 130 in a medium with mannitol and with nitrate nitrogen. The generation time, g, was 3.78 hours. That is, it required 3.78 hours for the organisms in the culture to double in number while growing logarithmically. The velocity coefficient of the rate of growth, K, was 0.184.

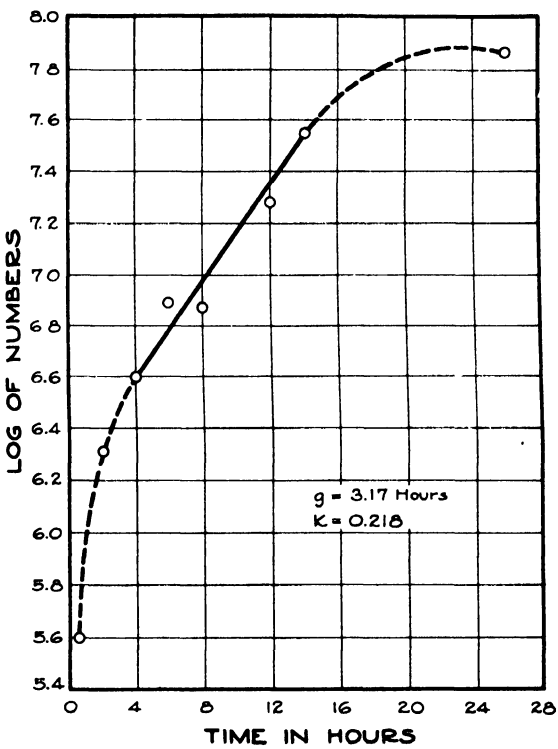


Fig. 10. Growth of Rhizobium meliloti, strain 131, in mannitol solution without combined nitrogen.

Figs. 3 and 4 represent duplicate determinations of the growth of Rhizobium meliloti strain 130 in the mannitol nutrient medium without added combined nitrogen. As may be noted, there was excellent agreement between the duplicate determinations, the generation time being 3.68 hours and the velocity coefficient of the rate of growth 0.188 for both tests. While this agreement is better than would be expected from duplicate determinations, it does serve to show the small amount of variability in the results secured and the reliability of the growth rate expressions.

In the cultures without added combined nitrogen, the generation time was slightly shorter than in the culture with the nitrate medium. The difference, however, is probably insignificant and within experimental variation. The surprising thing is the fact that the organisms grew at least equally

well in the medium without added combined nitrogen as they did in the medium with nitrate nitrogen. While this is not proof that the organisms will grow with absolutely no combined nitrogen it certainly is a good indication that at least only a very small amount of combined nitrogen is necessary for them to grow equally as well as in the presence of nitrate nitrogen in an amount equivalent to about 69 p. p. m. of nitrogen. Aside from the possibility that there may have been some nitrogen added to this medium as an impurity in the c. p. chemicals used in its preparation, there was also a small amount of nitrogen added in the inoculum. As previously stated, the inoculum was prepared from a yeast-mannitol solution. This contained one gram of yeast extract per liter, one one-hundreth of which was transferred to the growth culture with the inoculum. While no actual determination was made of the amount of nitrogen in the growth rate cultures, at the very most it could contain not more than 4 or 5 p. p. m. of nitrogen[1]). This amount is almost insignificant when compared with the 69 p. p. m. of nitrogen in the nitrate medium and yet the growth was equally as rapid in the two media. It is admitted that this amount of nitrogen, although small, may be sufficient to support a good growth of the organisms whereas without any combined nitrogen they may not grow at all.

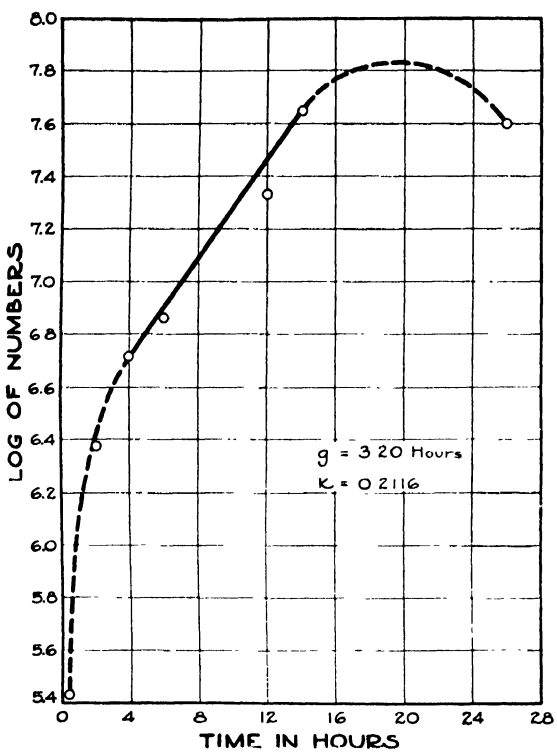


Fig. 11. Growth of Rhizobium meliloti, strain 131, in glucose solution with nitrate nitrogen.

After completion of the first experiment, another one was conducted similarly to the first in all respects, except that glucose was employed as the source of carbohydrate instead of mannitol. The data secured were plotted and are shown in figs. 5, 6, 7 and 8.

In this experiment where glucose was used instead of mannitol, the organisms grew somewhat more rapidly than they did in the first experiment in the presence of mannitol. In the nitrate medium, duplicate cultures showed generation times of 2.07 and 2.19 hours, and velocity coefficients of the rate of growth of 0.335 and 0.316 respectively. The duplicate cultures did not agree perfectly in rate of growth as they did in the previous test but the agreement is exceptionally good.

[1]) Subsequent analysis showed this medium to contain 3.6 p. p. m. of nitrogen.

In this experiment the organisms did not grow quite as rapidly without the added combined nitrogen as they did in the nitrate medium. The differences in rates of growth of the organisms in the two media were not large, however. The generation times for the organisms in the medium without nitrate being 2.54 and 2.26 hours, and the velocity coefficients 0.273 and 0.302 respectively for duplicate determinations.

The third experiment was conducted with a different organism. Strain 131 of Rhizobium meliloti was grown in mannitol and glucose solutions, each with nitrate nitrogen and without added combined nitrogen. Inasmuch as excellent agreement had been secured between duplicate cultures in each of the previous tests, duplicate culture flasks of the various media were not carried in this experiment. It was felt that the time and equipment could be used more effectively by making a larger number of different tests. The sampling was also started earlier in this experiment because the two previous experiments indicated that possibly the logarithmic period started a little before the sixth hour of incubation.

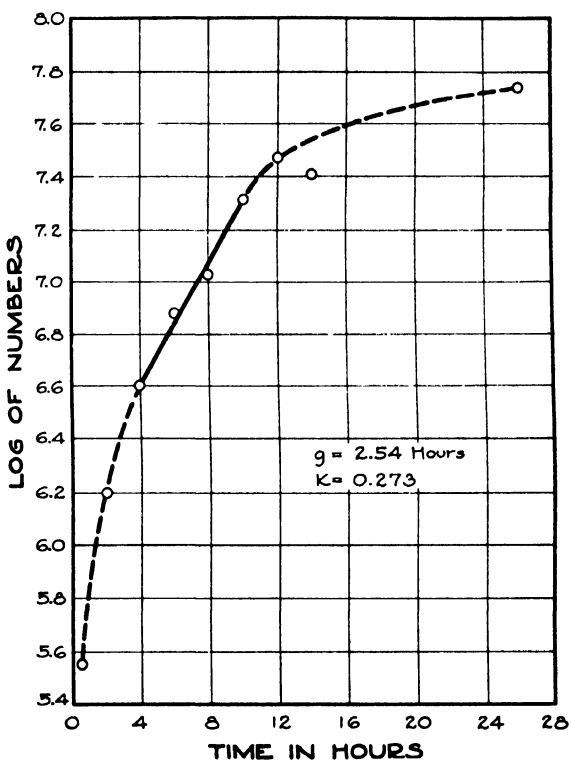


Fig. 12. Growth of Rhizobium meliloti, strain 131, in glucose solution without combined nitrogen.

The results of the third experiment are shown graphically in figs. 9, 10, 11 and 12. In the mannitol-nitrate medium the organisms showed a generation time of 2.62 hours and velocity coefficient of growth of 0.264. In this medium strain 131 grew quite a little faster than strain 130, the generation times being 2.62 hours and 3.74 hours respectively for the two organisms. In the mannitol medium without added combined nitrogen the generation time was 3.17 hours and the velocity coefficient of the rate of growth was 0.218. In this case also, the generation time was shorter for strain 131 than for 130 in the same medium indicating that strain 131 grew faster than strain 130. The differences in generation time for the two organisms in the medium without the nitrogen were not as large as the differences when the two organisms were grown in the presence of nitrate nitrogen.

In this experiment strain 131 grew somewhat faster in the nitrate medium than in the medium with no combined nitrogen, while strain 130 grew equally as well in the two media.

When the organisms of strain 131 were grown in the glucose medium

with nitrate nitrogen the generation time during the logarithmic period of growth was 3.20 hours and the velocity coefficient of the rate of growth was 0.216. This is about the same as the generation time for strain 130 when grown in the same medium. The generation time for the latter organisms as was shown in experiment two was 2.07 and 2.19 respectively for duplicate cultures.

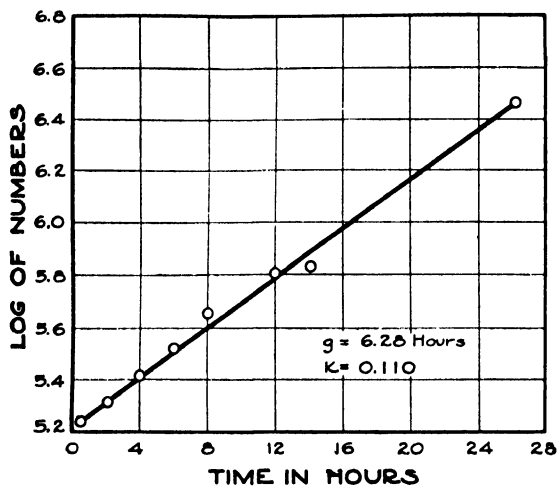


Fig. 13. Growth of Rhizobium japonicum, strain 416, in mannitol solution with nitrate nitrogen.

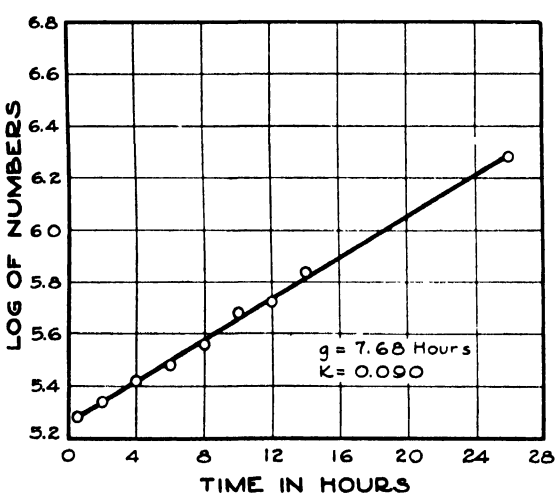


Fig. 14. Growth of Rhizobium japonicum, strain 416, in mannitol solution without combined nitrogen.

Likewise, the generation time of strain 131 when grown in glucose medium without combined nitrogen was practically the same as the generation time of strain 130 when grown in the same medium. The generation time for strain 131 was 2.54 hours and the velocity coefficient of the rate of growth was 0.273. Thus, the rate of growth of the two strains of Rhizobium meliloti was practically the same in the presence or absence of the nitrate when grown in the glucose medium. As was the case with the mannitol medium strain 131 grew somewhat faster in the presence of nitrate nitrogen than in the medium without combined nitrogen.

Upon analysis of the data of the three previous experiments it seemed that a fairly good idea of the comparative rates of growth had been secured for two strains of Rhizobium meliloti in glucose and mannitol media with nitrate nitrogen and without combined nitrogen. In the following experiments it was purposed to study the rates of growth of two strains of the soybean bacteria, Rhizobium japonicum in similar media and under the same growth conditions.

In the first experiment with Rhizobium japonicum, strain 416 was grown in mannitol and glucose nutrient solutions with nitrate nitrogen and without combined nitrogen. The results secured are shown graphically n figs. 13, 14, 15 and 16.

In the mannitol medium with nitrate the generation time was 6.28 hours, while in the medium without combined nitrogen the generation time was 7.68 hours. The velocity coefficients of the rate of growth in these two media were 0.110 and 0.090 respectively. It is quite evident that the organisms of this strain, 416, grew somewhat faster in the nitrate medium than without combined nitrogen. In the glucose solutions the generation times were 6.68 hours and 7.20 hours, and the velocity coefficients of the rate of growth were 0.103 and 0.096 for the organisms grown with nitrate and without combined nitrogen respectively. In the glucose media as well as in the mannitol media, the organisms grew slightly faster in the presence of the nitrate than without combined nitrogen.

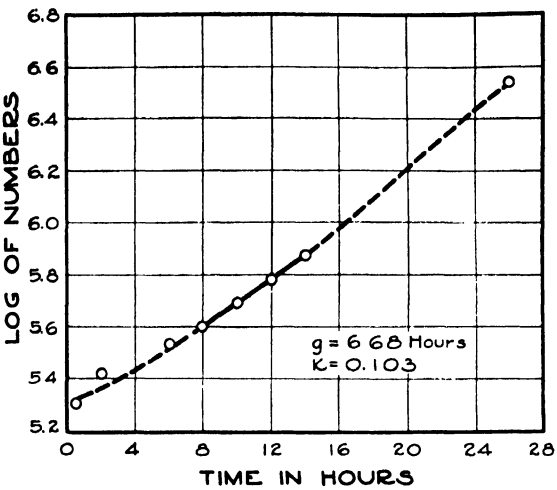


Fig. 15. Growth of Rhizobium japonicum, strain 416, in glucose solution with nitrate nitrogen.

In the media containing nitrate nitrogen the rate of growth was slightly faster when mannitol was supplied as energy source, but in the solutions without combined nitrogen they grew faster with glucose as the source of energy. It is difficult to say just how significant these differences are, and how much emphasis should be attached to them. There is the possibility at least that there is a difference in the rapidity with which the organisms can utilize the two sugars for growth energy in the presence or absence of nitrate nitrogen. This point is deserving of attention in future investigations.

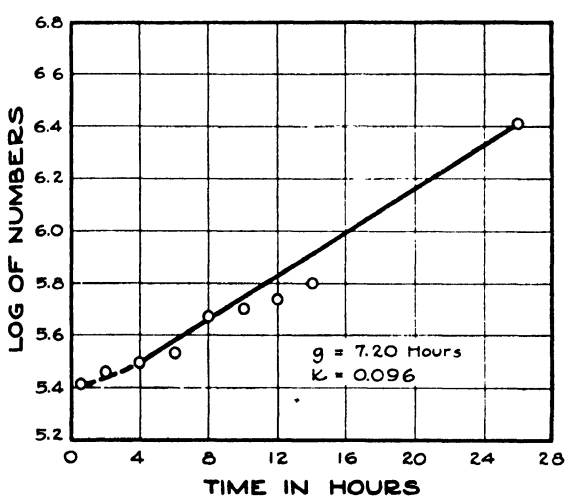


Fig. 16. Growth of Rhizobium japonicum, strain 416, in glucose solution without combined nitrogen.

The most noticeable thing about the rate of growth of this strain of Rhizobium japonicum is that it grows considerably slower in the same medium than the two strains of Rhizobium meliloti studied. The generation time for Rhizobium japonicum in this test was about twice as long as that secured for Rhizobium meliloti in the previous tests, hence the rate of growth of the soybean bacteria is only

about one-half that of the alfalfa root nodule bacteria. This is in full agreement with the observations and results of qualitative studies reported in an earlier paper (9) in which it was reported that the soybean bacteria apparently grow much slower on the surface of solid media and produce turbidity much slower in liquid media than the alfalfa organism, Rhizobium meliloti.

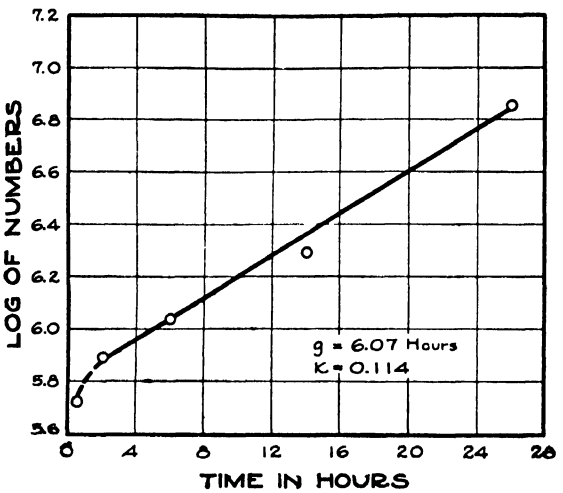


Fig. 17. Growth of Rhizobium japonicum, strain 415, in mannitol solution without combined nitrogen.

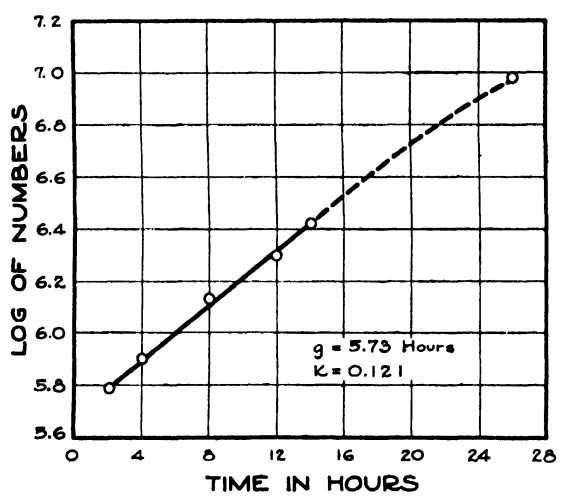


Fig. 18. Growth of Rhizobium japonicum, strain 415, in glucose solution with nitrate nitrogen.

Another experiment was conducted, similar to the last in all respects, except that the growth of strain 415 instead of 416 of Rhizobium japonicum was studied. The data secured are shown graphically in figs. 17, 18, and 19. In this test one of the culture flasks, the one with mannitol medium plus nitrate nitrogen became contaminated before the completion of the experiment. Hence, the results were discarded.

When this organism was grown in mannitol medium without added nitrogen the generation time was 6.07 hours and the velocity coefficient of growth was 0.114 during the logarithmic period of growth. This is somewhat faster than strain 416 grew in the same medium, the generation time for the latter organism being 7.68 hours as was shown in the previous test.

In the glucose medium without combined nitrogen, strain 415 grew slightly faster than in the mannitol solution. In the glucose solution with nitrate nitrogen the generation time was again somewhat less (5.73 hours) indicating that the organism grew slightly faster in the nitrate medium. The velocity coefficients of the rate of growth in these two media were 0.117 and 0.121 respectively. As was the case when grown in the mannitol media, strain 415 also grew appreciably faster than did strain 416 in the glucose media, as is shown by the figures for generation time and velocity coefficient of the rate of growth.

The results of these tests show quite definitely that the Rhizobium meliloti cultures grew considerably more rapidly than the cultures of Rhizobium japonicum in all the media tested. However, the comparisons were made by growing the organisms at different times. In order to make a direct comparison of rate of growth of these organisms when grown under identical conditions at the same time, another test was conducted wherein the rates of growth of all four strains of organisms were determined simultaneously. All organisms were grown in glucose media without added combined nitrogen. The culture flask inoculated with strain 416 became contaminated during the sampling procedure before the completion of the experiment, hence the data for this organism were not plotted. The results secured for the other organisms are shown graphically in figs. 20, 21 and 22. The generation times for the meliloti cultures were 3.21 and 3.92 hours respectively for strains 130 and 131, while the generation time for the japonicum culture, strain 415, was 6.09 hours. This shows very conclusively that the Rhizobium meliloti organisms grew considerably faster under similar conditions than the Rhizobium japonicum culture. The difference in growth rate of the two species was considerably larger than the differences between the rate of growth of the same strain or of different strains of the same species when grown in media of different composition. Whether these relationships would hold true if determinations were made with a large number of strains of these two species is not known. Neither is it known how the rates of growth

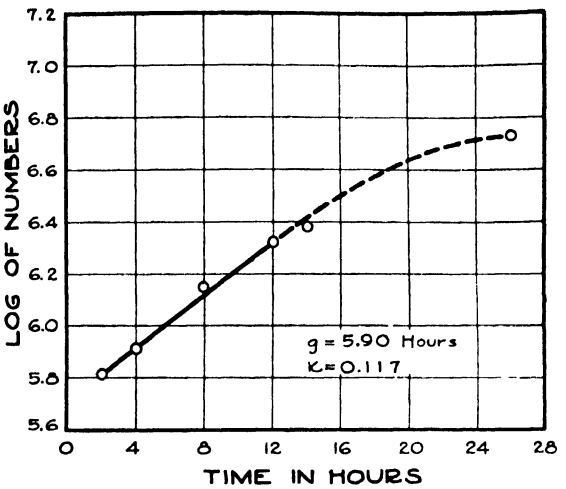


Fig. 19. Growth of Rhizobium japonicum, strain 415, in glucose solution without combined nitrogen.

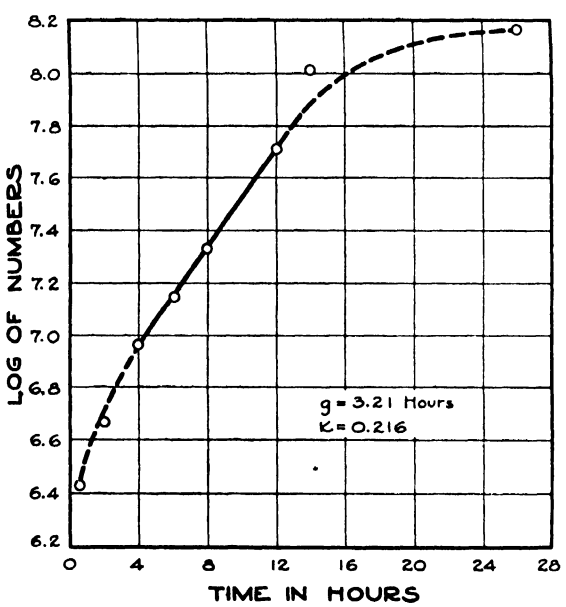


Fig. 20. Growth of Rhizobium meliloti, strain 130, in glucose solution without combined nitrogen.

for these two species would compare with those of other species within the genus Rhizobium.

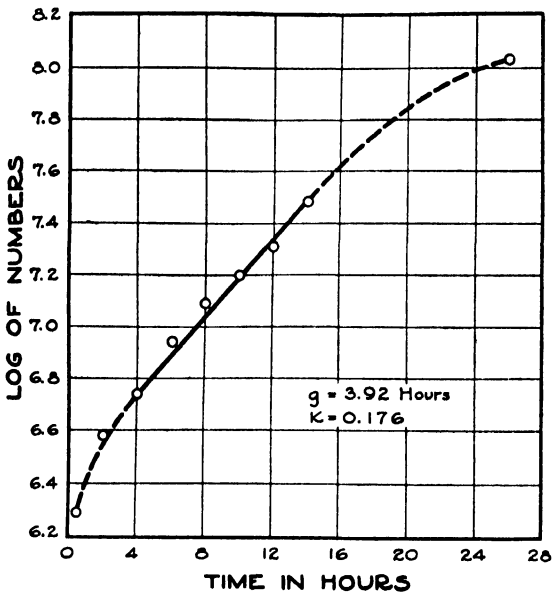


Fig. 21. Growth of Rhizobium meliloti, strain 131, in glucose solution without combined nitrogen.

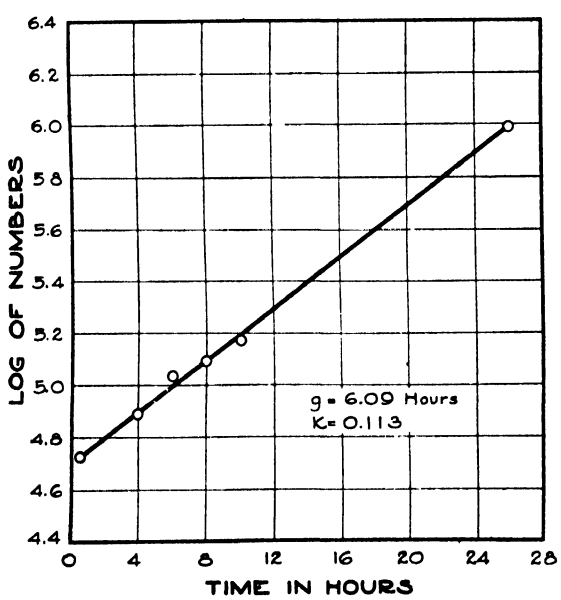


Fig. 22. Growth of Rhizobium japonicum, strain 415, in glucose solution without combined nitrogen.

Burk (4) stated that Rhizobium leguminosarum had a generation time of 1½ hours when grown in a medium containing 0.05 mgm. of ammonia nitrogen per cc. This organism made a more rapid growth as determined by respiration rate in the medium with ammonia nitrogen than in a similar medium containing nitrate nitrogen. On the other hand, it made no growth and did not fix nitrogen in a medium without combined nitrogen. While Burk's work cannot be directly compared with the work reported here, it does indicate that the organisms grow faster in the presence of ammonia nitrogen than in the presence of nitrate nitrogen. Furthermore, it indicates that combined nitrogen is essential to the growth of the organisms under the conditions of his experiment. This is in agreement with the work of Pohlman (7), Allison (1), Löhnis (6), Hopkins (5), Wilson, Hopkins and Fred (10), all of whom failed to detect nitrogen fixation by these organisms in amounts larger than the minimum amount of nitrogen measurable by the methods employed. On the other hand, the results reported in this paper indicate that the rate of growth of these organisms is not much faster in media containing as much as 69 p. p. m. of nitrogen as nitrate as in media to which no

combined nitrogen was added except that contained in the inoculum, which could have been not more than 4 or 5 parts of nitrogen per million parts of culture medium. It is quite evident from these data and those of other investigators that a further study of the nitrogen requirements of these organisms would be very desirable. Inasmuch as these organisms are known to be efficient nitrogen fixers when grown symbiotically with the host plant, but not when they are grown independently of the host on laboratory culture media, a study of their nitrogen requirements for growth might yield information of some value in determining how the organisms are able to fix nitrogen symbiotically. Some investigators believe that it is impossible for these organisms to fix nitrogen except in symbiosis with the host plant. All experiments conducted to test this point thus far have substantiated this belief. On the other hand, there are some investigators who believe that it would be possible for these organisms to fix nitrogen non-symbiotically if grown under suitable conditions. What those conditions may be no one has as yet made a suggestion that has proved to meet the requirements. It is hoped that the experiments now under way in this laboratory will yield information that will help solve some of these problems.

Summary and Conclusions.

1. Experiments were conducted to determine the comparative rates of growth of Rhizobium meliloti and Rhizobium japonicum.

2. Two strains of each of these species were grown in glucose and mannitol media with additions of nitrate nitrogen or in the absence of any combined nitrogen except that added in the inoculum. Samples were withdrawn from the cultures at various intervals and the numbers of viable organisms were determined by the agar plate counting method.

3. Growth curves were constructed from the data secured in the plate counts by plotting the logarithms of numbers of organisms in the cultures at various intervals against time in hours.

4. The rate of growth of the organisms during their logarithmic period of growth was calculated in terms of generation time, g, which varies inversely with the rate of growth, and the velocity coefficient of the rate of growth, K, which varies directly with the rate of growth.

5. In most cases the organisms grew slightly faster in the glucose media than in the mannitol media when the nitrogen content was the same.

6. The rate of growth was also slightly faster in most cases when the organisms were grown in the presence of the nitrate-nitrogen than without the added nitrate, irrespective of the carbohydrate used.

7. The differences in the rates of growth of strains of the same species of organisms or of the same strain when grown in the various media tested were not large when compared with the differences in the rates of growth of the different species.

8. The generation time of Rhizobium japonicum was found to be about twice as long as that for Rhizobium meliloti, indicating that Rhizobium meliloti grew about twice as fast under similar conditions. For example, when grown in the glucose medium in the absence of nitrate nitrogen the generation time for Rhizobium meliloti was 3.21 hours and the velocity coefficient of the rate of growth was 0.216. When Rhizobium japonicum was grown under identical

conditions the generation time was 6.09 hours and the velocity coefficient of the rate of growth was 0.113.

9. These data substantiate the conclusions drawn in an earlier paper in which it was shown that the alfalfa root-nodule bacteria, Rhizobium meliloti, produced a visible growth on solid media, and turbidity in liquid media, considerably faster than did the soybean bacteria, Rhizobium japonicum.

Literature.

1. Allison, F. E., Can nodule bacteria of leguminous plants fix atmospheric nitrogen in the absence of the host plant? (Journ. Agr. Res. Vol. 39. 1929. p. 893—924.) — 2. Buchanan, R. E., The gum produced by B. radicicola. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1909. S. 382—392.) — 3. Buchanan, R. E., Life phases in a bacterial culture. (Journ. Infect. Dis. Vol. 23. 1918. p. 109—125.) — 4. Burk, Doan, The influence of nitrogen gas upon the organic catalysis of nitrogen fixation by Azotobacter. (Journ. Phys. Chem. Vol. 34. 1930. p. 1195—1209.) — 5. Hopkins, E. W., Studies of nitrogen fixation by the root nodule bacteria of the Leguminosae. (Soil Sci. Vol. 28. 1929. p. 433—447.) — 6. Löhnis, M. P., Can Bacterium radicicola assimilate nitrogen in the absence of the host plant? (Soil Sci. Vol. 29. 1930. p. 37—57.) — 7. Pohlman, G. G., Nitrogen fixation by Rhizobium meliloti and Rhizobium japonicum. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 23. 1931. p. 22—27.) — 8. Stevens, J. W., A study of various strains of Bacillus radicicola from nodules of alfalfa and sweet clover. (Soil Sci. Vol. 20. 1925. p. 45—62.) — 9. Walker, R. H., Anderson, D. A., and Brown, P. E., The comparative growth rates of Rhizobium meliloti and Rhizobium japonicum. I. Qualitative studies. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 433.) — 10. Wilson, P. W., Hopkins, E. W., and Fred, E. B., The biochemistry of nitrogen fixation by Leguminosae. I. Nitrogen fixation studies of Rhizobia apart from the host plant. (Arch. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 322—340.) — 11. Wilson, P. W., and Kullman, E. D., A statistical inquiry into methods for estimating numbers of Rhizobia. Journ. Bact. Vol. 22. 1931. p. 71—90.) — 12. Wright, W. H., The nodule bacteria of soybeans. (Soil Sci. Vol. 20. 1925. p. 95—120, 131—140.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Würzebakterien.

[Aus dem Gärungsphysiologischen Institut Weihenstephan der Technischen Hochschule München. Vorstand: Prof. Dr. Hans Schnegg.]

Von **Max Löweneck.**

In verdorbener Würze finden sich immer wieder die gleichen Bakterienformen. Es sind Kurzstäbchen, die im Gegensatz zu den Essigbakterien nur schwach säuern, aber einen an Fäulnis erinnernden Geruch, den sog. „Selleriegeruch" hervorrufen. Sie werden im Brauereibetrieb als „Termobakterien" bezeichnet. Trotz der Häufigkeit ihres Auftretens sind diese, meist lebhaft beweglichen, Würzeverderber bisher selten Gegenstand eingehenderer Untersuchung gewesen.

Die ersten ausführlicheren Angaben über ein solches Bakterium stammen bereits aus dem Jahre 1890. Zeidler (23) isolierte aus gehopfter Würze ein Kurzstäbchen, das gegenüber Hefe wenig Widerstandsfähigkeit zeigte. Dasselbe zersetzte Würze unter Bildung auffallender Geruchsstoffe. Gelatine

wurde nach 5—6 Tagen verflüssigt. Mit Bakterien, welche aus Dünnbierwürze der Nachkriegszeit gezüchtet waren, beschäftigte sich später Zikes (24). Leider konnte das Verhalten der einzelnen Stämme auf den üblichen Nährböden nicht beschrieben werden, da es an den nötigen Rohstoffen zur Anstellung der verschiedenen Kulturversuche fehlte. Das Ergebnis der Untersuchungen war, daß Würze mit geringem Extraktgehalt, auch bei Gegenwart von Hefe, noch ein Gedeihen von Würzebakterien ermöglicht. Eine zusammenfassende Darstellung der Wachstumsbedingungen und Lebenserscheinungen der „Termobakterien" findet sich in Schneggs „Mikroskopischem Praktikum des Brauers" (19). An dieser Anleitung zum Studium der Gärungsorganismen ist in unserem Zusammenhang besonders die Angabe bemerkenswert, daß bestimmte Arten von Würzebakterien in ihrem natürlichen Nährboden Gasentwicklung bewirken.

Ein Kurzstäbchen, das neuerdings vom Verf. aus einer Würzeprobe isoliert wurde, wich in seinem Verhalten zu Gelatine von dem von Zeidler beschriebenen Würzebakterium ebenfalls erheblich ab, da die Verflüssigung des Nährbodens erst nach mehreren Wochen in Erscheinung trat. Es hat also den Anschein, als ob die in Würze stets vorherrschenden Kurzstäbchen, trotz weitgehend ähnlichen Verhaltens, nicht in jedem Fall als Vertreter ein und derselben Bakterienart gelten könnten. In dieser Auffassung bestärkt noch eine Beschreibung verschiedener „Termobakterien" in Lindners „Biologischer Betriebskontrolle" (15). Leider ist aus dieser Zusammenstellung weitgehend ähnlicher Fäulnisbakterien nicht zu entnehmen, ob sie alle in Würze nachgewiesen wurden. Das Verhalten einer großen Anzahl von Bakterienstämmen zu Würze und Bier hat Zikes systematisch untersucht (24). Es zeigte sich, daß neben der Coligruppe nahestehenden Bakterien in erster Linie die in Wasser häufigen Fluoreszenten und eine ziemliche Zahl von Farbstoffbildnern imstande sind, Würze anzugreifen. Wenn somit ein Gedeihen zahlreicher Bakterienstämme in Würze nachgewiesen ist, so bleibt die Frage, welche von ihnen unter gewöhnlichen Betriebsverhältnissen sich vorwiegend einstellen, offen. Es ist anzunehmen, daß schon durch die Behandlung, welche die Würze in der Brauerei erfährt, manche Bakterienarten vollständig ausgeschaltet werden. Der in den folgenden Zeilen gegebene Bericht über die aus verschiedenen Würzeproben reingezüchteten Bakterienstämme soll nun einen Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora gewöhnlicher, gehopfter Betriebswürze liefern.

Reinzucht verschiedener Würzebakterienstämme.

Die untersuchten Würzen kamen aus den verschiedensten Gegenden Deutschlands, aus Oberbayern, Niederbayern, Württemberg, Baden und aus dem Rheinland. Diese Auswahl des Versuchsmaterials gibt Gewähr, daß die Untersuchungen sich nicht allein auf Bakterien erstreckten, denen lediglich örtliche Bedeutung zukommt. Die ersten Stämme wurden aus Würze der Bayerischen Staatsbrauerei gewonnen. Trubwürze gelangte bei 25° im Thermostaten zur Aufstellung. Schon am anderen Tage trat der für Würzebakterien meist angegebene Selleriegeruch auf, später starke Trübung und Gasbildung in der Nährflüssigkeit. Von dieser veränderten Würzeprobe wurden Verdünnungsplatten angelegt, welche nach ein paar Tagen fast durchweg gleiche Oberflächenkolonien aufwiesen. Es lag vermutlich eine Reinkultur eines Kurzstäbchens vor. Eine gut isolierte Kolonie einer solchen

Gelatineplatte lieferte, in Würze übertragen, weiterhin kräftiges Bakterienwachstum. Die nochmalige Anlage einer Reihe von Kochschen Plattenkulturen aus dieser zweiten Würzekultur führte zu lauter gleichartigen Kolonien. Mehrere Abimpfungsversuche zeigten, daß sie nur gasbildende, bewegliche Kurzstäbchen enthielten. Es konnte somit das Vorliegen einer Reinkultur angenommen werden. Der Stamm (W 1) wurde unter häufiger Übertragung in frische Würze fortgezüchtet. Kühlschiffwürze lieferte später, allerdings erst nach längerer Bebrütung, Stamm W 2. Bei seiner Reinzüchtung wurde ebenso verfahren, wie mit dem ersten Würzestamm.

Die weiteren Stämme wurden aus Würzeproben gewonnen, die von verschiedenen anderen Betrieben an die Brautechnische Versuchsstation in Weihenstephan eingesandt waren. Aus den Proben, die noch zu anderweitigen Untersuchungen dienten, kamen jeweils einige Tropfen in sterile Würze. Die durch diesen Abimpfungsversuch erhaltenen Bakterienkulturen wurden in gleicher Weise weiterbehandelt, wie die aus der Staatsbrauerei durch Aufstellung von Würzeproben gewonnenen. Die ersten Isolierungsplatten wiesen gelegentlich Oberflächenkolonien mit verschiedenartigem Aussehen auf. In diesem Falle wurde von jeder der vorgefundenen Kolonienformen eine Übertragung in Würze ausgeführt. Vielfach stellte sich dann heraus, daß die so erhaltenen Zweigkulturen alle das gleiche Entwicklungsbild zeigten. Auch erwiesen sich, bei erneuter Anlage von Verdünnungsplatten, nun die Bakterienkolonien wieder als gleichartig. Es konnte dann angenommen werden, daß die Probe doch nur eine einzige Bakterienart enthalten hatte. Daß selbst unzweifelhafte Reinzuchten von Mikroben auch auf gleichartigem Nährboden unter Umständen Kolonien von ungleichem Aussehen aufweisen können, wurde neuerdings von Schachner bestätigt und auf seine Ursachen hin untersucht (18). Nur zweimal traten in ein und derselben Würze zwei deutlich verschiedene Bakterienstämme auf. Sie bekamen, neben der Ziffer der Würzesendung, bei den weiteren Versuchen die Bezeichnung a und b. Von den von auswärts kommenden Würzeproben gelangten auf diese Weise die Stämme W 3—9 zur Auslese. Aus 9 Proben, welche 7 verschiedenen Betrieben entstammten, wurden so im ganzen 11 Stämme isoliert. Bei sämtlichen Reinzuchtversuchen wurden nur Kurzstäbchen erhalten. 10 von den 11 gewonnenen Stämmen bildeten aus Würze Gas. Diese Beobachtungen sprechen schon dafür, daß die Bakterien in der Mehrzahl zu ein und derselben Spaltpilzgruppe gehören. Die Würze war meist schon 1 Tag nach der Impfung stark getrübt. Alsbald wurde sie merklich heller. Nur bei Stamm W 5 wurde die Entfärbung des Nährbodens nicht deutlich wahrgenommen. Nach einigen Tagen trat in allen Kulturen reichlich Bodensatz auf. Deckenbildung zeigte sich bei den Stämmen W 1, 2, 4a, 4b, 6a, 6b, 7 und 9 nach 4—5 Tagen. Stamm W 9 war durch starke Schleimbildung ausgezeichnet. Die mit Bakterien aus dieser Reinzucht infizierte Würze wurde so zäh, daß der beim Überimpfen auf frischen Nährboden mit dem Impfgerät ausgezogene Faden nur durch Abbrennen durch die Flamme abgetrennt werden konnte.

Untersuchung der Kolonienbildung und Begeißelung.

Zur eingehenderen Beschreibung der verschiedenen Würzebakterienstämme wurden zunächst Nährgelatineplattenkulturen angelegt und Geißelfärbungen ausgeführt (Tabelle 1).

Tab. 1. Kolonienbildung und Begeißelung.

Stamm	Gestalt der Gelatinekolonien	Farbe	Anordnung der Geißeln	Zahl
W 1	scheibchenformig	farblos-gelblich	peritrich	2—6
W 2	nierenförmig, flach	desgl.	,,	2—4
W 3	halbkugelig	desgl.	lophotrich	2—4
W 4a	,,	desgl.	peritrich	1—4
W 4b	halbkugelig-grießig	weiß	,,	2—4
W 5	halbkugelig	farblos-gelblich	,,	2—4
W 6a	scheibchenformig	desgl.	,,	3—4
W 6b	flach-kegelformig	weiß	,,	2—4
W 7	scheibchenformig m. strahligen Falten	gelb	Geißeln nicht vorhanden	
W 8	halbkugelig	farblos-gelblich	peritrich	4—6
W 9	flach-kegelförmig	weiß	Geißeln nicht vorhanden	

Wenn auch die auf Nährgelatine erhaltenen Kolonien der einzelnen Stämme geringe Verschiedenheiten aufwiesen, so ermöglichen sie doch nicht eine Erkennung bestimmter Arten. Würzegelatine lieferte kein wesentlich anderes Ergebnis, als der Fleischsaftnährboden. Auffallende Farbstoffbildung war nur bei einem Stamm zu beobachten (W 7). Gleichartig, wie im großen und ganzen die Kolonienbildung, war auch fast ausnahmslos die Anordnung der Geißeln.

Bei den Versuchen der Geißelfärbung wurde zunächst nach Zettnows Vorschrift gearbeitet. Dieses Verfahren ergab bei Stamm 4a und 6b keine deutlichen Bilder. Indessen lieferte van Ermengems Methode auch bei diesen Bakterien brauchbare Ergebnisse. Sie wurde bei späterer vergleichsweiser Feststellung der Begeißelung von echten Colibakterien wiederum angewendet. Lediglich die Stämme 7 und 9 erwiesen sich bei allen Färbungsversuchen als geißellos. Sie zeigten außerdem, sowohl in Nährbouillon und Würze, als auch auf Nähragar und Nährgelatine keinerlei Beweglichkeit. Es kann also mit Bestimmtheit angenommen werden, daß sie tatsächlich keine Geißeln besaßen. In der Anordnung der Geißeln wich lediglich Stamm 3 von den übrigen Würzebakterienreinzuchten ab. Bei seiner weiteren Kultur in steriler Würze zeigte dieses Bakterium ein immer schlechteres Gedeihen und vermehrte sich schließlich überhaupt nicht mehr. Es kann kaum als ein echtes Würzebakterium angesehen werden. Von seiner eingehenderen Beschreibung ist daher Abstand genommen.

Der Bau der Kolonien, im Zusammenhang mit der meist vorhandenen Beweglichkeit der Bakterien und ihrem Gasbildungsvermögen, legte den Gedanken nahe, daß es sich bei den aus Würze gezüchteten Stämmen um Vertreter der Coligruppe handelte. Daher wurden auch noch echte Coli- und Aerogenesbakterien zu den Versuchen herangezogen. Tabelle 2 stellt somit eine Ergänzung zu Tabelle 1 dar.

Tabelle 2.

Stamm	Gestalt der Gelatinekolonien	Farbe	Anordnung der Geißeln	Zahl
coli 1 . .	linsenförmig	farblos-gelblich	peritrich	2—6
coli 2 . .	flach m. welligem Rand	desgl.	,,	2—6
aerogenes .	linsenförmig	desgl.	Geißeln nicht vorhanden	

Die Stämme coli 2 und aerogenes waren von der Süddeutschen Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Weihenstephan freundlichst überlassen, der Stamm coli 1 wurde von Herrn Professor Dr. Sabalitschka, Berlin-Charlottenburg, liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, zeigten die zum Vergleich herangezogenen Coli- und Aerogenes-Bakterien die gleiche Art der Koloniebildung, wie die Würzebakterien. Auch ist die Anordnung der Geißeln bei den Colibakterien gleich der für die Würzestämme gefundenen.

Indolprobe und Versuche über Gelatineverflüssigung.

Daß die Würzebakterien indessen keine echten Colibakterien sind, ließen des weiteren Kulturversuche vermuten, bei denen Levinescher Agar (Methylenblau-Eosin-Laktose-Agar) verwendet wurde: Die Kolonien der typischen Colistämme zeigten den erwarteten metallisch-schwarzen Glanz, während die Würzestämme nur kleine punktförmige Kolonien mit bläulich-weißer Farbe bildeten. Dieses abweichende Verhalten der Würzebakterien kam ferner auch bei der Indolprobe zum Ausdruck. Zur Bestimmung echter Colibakterien wird schon seit langer Zeit der Nachweis der Indolbildung empfohlen. Man führt ihn heute meist nach einer der Arbeitsvorschriften aus, die sich auf die Untersuchungen von Ehrlich und Frieber aufbauen. Nach Nießles Angaben im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen ist Indolbildung bei echten Colistämmen stets vorhanden. Ruchhoft, Kallas, Ben Chinn und Goulter (17) haben neuerdings den Wert der Indolprobe eingehend untersucht und die Fähigkeit des Bacterium coli, Indol zu bilden, als sehr konstant befunden. Auf Grund ihrer Überlegungen kommen die genannten Forscher zu der Auffassung, daß meistens nur Stämme, welche auch in ihrem sonstigen biochemischen Verhalten vom echten B. coli merklich abweichen, beim Indolnachweis versagen.

Die Prüfung der Würzestämme auf ihr Indolbildungsvermögen erfolgte nach der von Kovàčs angegebenen und von Demeter (3) eingehender nachgeprüften Modifikation der Ehrlichschen Methode. Die Bakterienstämme wurden auf Nähragar herangezüchtet, dann in Trypsinbouillon übertragen und 3 Tage lang bei 25° bebrütet. Zum Indolnachweis diente dann das Kovàčssche Reagens. Es zeigte sich, daß keiner der isolierten Würzestämme Indol gebildet hatte. Echtes B. coli war also unter den Würzebakterien nicht vorhanden. Die Beobachtungen, welche nach einiger Zeit an den Gelatinekulturen gemacht wurden, zeigten, daß die isolierten Stämme größtenteils sogar nur mit Vorbehalt als den Colibakterien näherstehend gelten dürfen.

Bei späterer Besichtigung der Verdünnungsplatten stellte sich nämlich heraus, daß dieselben zum Teil in flüssigen Zustand übergeführt worden waren. Doch trat diese Veränderung der Nährböden recht spät ein. Die außerordentlich langsame Verflüssigung der Gelatine durch die einzelnen Stämme weist auf die von Wolffin (22), Hollinger (9) und Levy (14) näher beschriebenen Bakterien der spontanen Mehlteiggärung hin, welche im übrigen mit den Colibakterien große Ähnlichkeit besitzen. Die Fähigkeit der einzelnen Würzestämme, Gelatinenährböden zu verflüssigen, wurde daher einer genaueren Untersuchung unterzogen. Nährgelatine-Strichkulturen, bei Zimmertemperatur (16—18°) aufgestellt, erwiesen sich

für die Beobachtungen geeignet. Das Bakterienmaterial dieser Untersuchung stammte, wie bei allen folgenden Versuchen, aus 2—3 Tage alten Züchtungen in gehopfter Würze. In einem Abstande von je 4 Tagen wurden die Gelatineröhrchen immer wieder nachgesehen und die Vermerke über Vorhandensein oder Fehlen einer Verflüssigung aufgezeichnet (Tab. 3). Mit Ausnahme der Stämme 5 und 9 erwiesen sich fast alle Würzebakterienstämme als Gelatineverflüssiger. Doch geht aus der Tabelle deutlich hervor, daß diese abbauende Tätigkeit der Bakterien bei der Mehrzahl der Stämme erst nach 24—28 Tagen und nur bei Stamm W 7 innerhalb knapp 2 Wochen in Erscheinung tritt. Diese Tatsache, sowie das Gasbildungsvermögen der Stämme, und die peritriche Begeißelung bestätigen somit die Annahme, daß es sich bei der Mehrzahl der Würzestämme um Vertreter der schon erwähnten Erreger der Mehlteiggärung handelt. Für diese coliartigen Spaltpilze wurde in neuerer Zeit von Lehmann und Neumann die Bezeichnung B. albidoliquefaciens und luteoliquefaciens eingeführt. Stamm 1, 2, 4a, 4b, 6a, 6b und 8 mögen, wegen der weißen oder nahezu fehlenden Färbung ihrer Gelatinekolonien und ihres geringen Zersetzungsvermögens gegenüber Gelatine als Bacterium albidoliquefaciens gelten, Stamm 7 wegen der gelben Farbe der Bakterienanhäufungen und des großen Verflüssigungsvermögens als Bacterium luteoliquefaciens.

Tab. 3. Gelatineverflüssigung.

Stamm-bezeichnung	Ergebnis der Beobachtungen über Gelatineverflüssigung								
	nach 4	8	12	16	20	24	28	32	65 Tagen
coli 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
coli 2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
aerogenes . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—
W 1	—	—	—	—	—	—	+	+	+
„ 2	—	—	—	—	—	—	+	+	+
„ 4a	—	—	—	—	—	+	+	+	+
„ 4b	—	—	—	—	—	+	+	+	+
„ 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 6a	—	—	—	—	—	+	+	+	+
„ 6b	—	—	—	—	—	+	+	+	+
„ 7	—	—	+	+	+	+	+	+	+
„ 8	—	—	—	—	—	—	+	+	+
„ 9	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Versuche über das Verhalten der verschiedenen Stämme zu Gelatine wurden 3 Monate später mit gleichem Ergebnis wiederholt. Inzwischen waren die Bakterien andauernd in Würze weitergezüchtet worden. Daß diese coliartigen Spaltpilze stets das gleiche schwache Gelatinezersetzungsvermögen besitzen, zeigen ja auch die ziemlich übereinstimmenden Angaben Holligers, Levys und Geilingers (5).

Die Stämme 5 und 9 scheinen, wegen ihres Unvermögens, Gelatine zu verflüssigen, dem B. coli näherzustehen. Stamm 9 kann, wegen seiner Unbeweglichkeit und der fehlenden Indolbildung als B. aerogenes angesehen werden. Der bewegliche Stamm 5, der ebenfalls zur Indolbildung außerstande ist und daher nicht als echtes B. coli gelten kann, ist nicht so leicht einer der bekannten Bakteriengruppen zuzurechnen. Er ist vermutlich mit dem von Wolffin ebenfalls bei der spontanen Mehlteiggärung entdeckten B. levans identisch. Letzteres bildet auch Gas und

Säure, ist beweglich und verflüssigt Gelatine nicht, steht aber dem Bacterium aerogenes in seinem physiologischen Verhalten näher, als dem B. coli. Derartige Bakterien scheinen übrigens häufiger zu sein, als man nach den Angaben der Handbücher vermuten möchte. Solche Stämme wurden auch von Hees und Tropp (7), von Minkewitsch (16) und in jüngster Zeit von Grimes und Hennerty aufgefunden (6).

Gasbildungsvermögen und Voges-Proskauersche Reaktion.

Wolffin hatte beobachtet, daß ein Teil der Erreger der spontanen Mehlteiggärung, obwohl beweglich, im Gegensatz zu den echten Coli-Bakterien, aber in Übereinstimmung mit B. aerogenes, mehr Kohlensäure, als Wasserstoff bildet. B. albidoliquefaciens verhält sich nach Levy wie B. aerogenes, bildet also wesentlich mehr Kohlensäuregas, als Wasserstoffgas. B. lutcoliquefaciens soll hinsichtlich der Zusammensetzung der Gärungsgase sich nicht gleich bleiben. Levy bediente sich zur Feststellung des Kohlensäurebildungsvermögens der verschiedenen Bakterienstämme der in Smithschen Gärröhrchen aufgefangenen gasförmigen Stoffwechselprodukte. Gegen diese Methode wurden später Bedenken geäußert. Aus Darlegungen Friebers (4) ergibt sich, daß der in der Kulturflüssigkeit absorbierte Kohlensäureanteil bei derartigen Gärversuchen recht beträchtlich ist. Namentlich bei geringem Gasbildungsvermögen der Bakterien darf er nicht vernachlässigt werden. Da nun der Absorptionskoeffizient für Kohlensäure in derartig komplizierten Stoffgemischen, wie sie die üblichen Nährböden darstellen, schwer zu bestimmen ist, kann man ihn nicht in Rechnung stellen und so kein zuverlässiges Ergebnis erlangen.

Infolge dieser Schwierigkeiten empfiehlt es sich, bei Colibestimmung anstatt des Kohlensäureüberschusses der Gärungsgase die Bildung von Azetyl-Methyl-Karbinol (Azetoin) durch die Bakterienkulturen nachzuweisen. Es besteht, wie Untersuchungen Levines (13) zeigen, weitgehende Übereinstimmung zwischen Voges-Proskauerscher Reaktion, welche auf Entstehung von Acetoin in der Kulturlösung beruht, und vermehrter Kohlensäurebildung der Bakterien. Die Voges-Proskauerreaktion kann in einfacher Weise ausgeführt werden: Bei Zugabe von mäßig konzentrierter Kalilauge zur Kulturlösung tritt nach einigen Stunden Rotfärbung auf. Diese Erscheinung zeigt die Bildung von Diacetyl, einem Oxydationsprodukt des Acetyl-Methyl-Carbinols an. In neuester Zeit sind allerdings Bedenken gegen den Versuch geäußert worden, diesen Nachweis als Grundlage der Gruppeneinteilung der Colibakterien zu verwenden. So konnten u. a. Klimmer, Haupt und Borchers eine Übereinstimmung der Azetoinprobe mit anderen Nachweismethoden nur in wenigen Fällen feststellen (10). Anderseits klären Ruchhoft, Kallas, Ben Chin und Coulter (17) Unregelmäßigkeiten, welche sich bisher ergeben haben, zum Teil als vereinzelte, bei Wiederholungsversuchen nicht wiederkehrende Beobachtungen auf, zum Teil nehmen sie mit gutem Grund an, daß nichttypische, auch in ihrem sonstigen Verhalten abweichende Vertreter der Colibakterien mit echten Colistämmen verwechselt wurden. Bei Angaben über unerwartete Ergebnisse der Voges-Proskauer-Probe ist auch zu bedenken, daß die Arbeitsweise bei diesem Nachweis selbst in neuester Zeit immer wieder geändert wurde und eine wesentliche Verbesserung erfuhr. Eine gegenüber der üblichen verschärfte Beobachtung haben Ruch-

hoft, Kallas, Ben Chin und Coulter angewendet. Bei den 39 echten Colistämmen, welche bei den einschlägigen Versuchen verwendet wurden, konnte Azetoinbildung nicht nachgewiesen werden. Anderseits ergaben 30 Aerogenes kulturen durchwegs + Voges-Proskauer-Reaktion. Dieses Ergebnis sorgfältiger Untersuchung spricht wiederum dafür, daß der Azetoinnachweis zu Bestimmungszwecken brauchbar ist.

Auf Grund der neueren Versuche über die Bildung von Azetyl-Methyl-Karbinol durch Bakterien hat nun die Einteilung der Coligruppe in eine Voges-Proskauer positive und eine Voges-Proskauer negative Untergruppe weite Verbreitung gefunden. Zu ersterer werden die Colibakterien im engeren Sinne gerechnet, zu letzterer neben B. aerogenes auch B. cloacae. Dieses peritrich begeißelte Kurzstäbchen bildet ebenfalls mehr Kohlensäure als Wasserstoff und daher auch Azetyl-Methyl-Karbinol. Es steht auch in seinen sonstigen physiologischen Eigenschaften dem B. aerogenes nahe und unterscheidet sich von letzterem außer durch Begeißelung hauptsächlich durch kräftige Gelatineverflüssigung. Da die Würzebakterien, wie die vorausgehenden Untersuchungen erwiesen hatten, nicht als echtes B. coli angesehen werden können, lag es nahe, festzustellen, ob sie in die eben angegebene Untergruppe aerogenes-cloacae einzureihen seien. Die isolierten Würzestämme wurden daher auf ihr Azetoinbildungsvermögen hin untersucht. Die Nährlösung war nach den Vorschriften der amerikanischen Standardmethoden zusammengesetzt. Da Vorversuche gezeigt hatten, daß unter den Würzebakterien Stämme vorkommen, welche sich schon bei 36° nicht mehr vermehren, erfolgte die Aufstellung der Versuchskulturen bei 25 und 30°. Die 30°-Röhrchen wurden nach 4 und 6 Tagen, die 25°-Röhrchen nach 6 und 7 Tagen untersucht. Neben der gewöhnlichen Voges-Proskauer-Reaktion (Standard Methods!) gelangte auch die Azetoinprobe nach Werkman zur Ausführung (21). Bei dieser Arbeitsweise wird das Auftreten der eosinroten Färbung der Versuchsflüssigkeit durch Eisenchlorid beschleunigt. Das später auftretende Kupferrot erhält sich auch viel länger, als bei der üblichen Methode. Bei beiden Nachweisversuchen kamen die Proberöhrchen, nach vorschriftsmäßiger Zugabe der erforderlichen Reagentien, wieder in den Thermostaten, in dem die Kulturen gestanden waren. 3 Std. später wurden sie dann erstmals durchgesehen. Nach diesem Zeitraum war die beschleunigte Reaktion bei der überwiegenden Mehrzahl der Stämme bereits deutlich erkennbar. Die Beobachtung wurde jedoch auf 2 Tage ausgedehnt (Tab. 4).

Aus Tabelle 4 ergibt sich, daß alle Würzebakterien positive Voges-Proskauer-Reaktion geben. Die beiden echten Colistämme weichen mit ihrer Unfähigkeit zur Bildung von Azetoin von allen übrigen Bakterien ab. Die Aerogenes-Kulturen dagegen verhalten sich wie die Würzezerstörer. Die Zugehörigkeit zur aerogenes-cloacae-Gruppe ist bei Würzestamm 7 am wenigsten ausgeprägt, da bei ihm die Azetoinbildung bei einfacher Methode erst nach 2 Tagen erkennbar ist. Schon aus dem Verhalten, das die meisten Würzebakterien gegenüber Gelatinenährböden zeigen, kann geschlossen werden, daß sie in physiologischer Hinsicht eine Mittelstellung zwischen dem B. cloacae, welches kräftig Gelatine verflüssigt und dem B. aerogenes, welches sie nicht verflüssigt, einnehmen. Durch das Verhalten der einzelnen Stämme im Azetoinversuch erscheint die Zugehörigkeit dieser Bakterien zur Untergruppe aerogenes-cloacae weiterhin bestätigt.

Tab. 4. Voges-Proskauersche Reaktion.

Stamm-bezeichnung	Ergebnis nach „Standard Methods" bei 25°	30°	nach Werkman bei 25°	30°
coli 1	—	—	—	—
coli 2	—	—	—	—
aerogenes . .	+	+	+	+
W 1	+	+	+	+
W 2	+	+	+	+
W 4a	+	+	+	+
W 4b	+	+	+	+
W 5	+	+	+	+
W 6a	+	+	+	+
W 6b	+	+	+	+
W 7	+	+[1])	+	+
W 8	+	+	+	+
W 9	+	+	+	+

Auch der nicht verflüssigende Würzestamm 5 schließt sich bei diesen Versuchen, ebenso wie bei der Indolprobe, den übrigen Würzebakterien an. Er erweist sich so wieder, trotz seiner Begeißelung, als nicht zu Bacterium coli im engerem Sinne gehörig.

Untersuchung des Säurebildungsvermögens.

Zur eingehenderen Aufklärung der Stellung, welche Würzestamm 5 innerhalb der Coligruppe einnimmt, wurde die Untersuchung der Stoffwechselprodukte der Würzebakterien noch weiter ausgedehnt und deren Säurebildungsvermögen ermittelt. Es ist damit gleichzeitig eine Möglichkeit geschaffen, die Säuerung, zu der die Bakterien der Würze imstande sind, mit der der Essigsäurebildner zu vergleichen. In je 50 ccm Würze kam 1 ccm einer zweitägigen Bakterienkultur. 6 und 8 Tage später erfolgte die Bestimmung des Säurezuwachses, den die Würze durch die Lebenstätigkeit der Spaltpilze erfahren hatte. 25 ccm der Kulturflüssigkeit wurden zur Verminderung der Trübung mit der gleichen Menge kohlensäurefreien destillierten Wassers verdünnt und mit Hilfe eines Lüersschen Azidimeters bis zur schwach gefärbten Phenolphthaleinvergleichslösung (ph 8,3) titriert. Besonders zu beachten war, daß die Bakterien auch durchweg Kohlensäure bildeten. Es mußte angenommen werden, daß ein mehr oder minder großer Teil dieser Säure schon im Thermostaten, in dem die Bakterienkulturen herangezüchtet wurden, verlorenging. Daher erschien es zweckmäßig, von einer Einbeziehung der Kohlensäure in die Säurebestimmungsversuche ganz abzusehen, die Probe ¼ Std. lang im Wasserbad bei 40° zu halten und durch wiederholtes Schütteln für Verdrängung der Kohlensäure zu sorgen. In diesem Sinne wurde schließlich auch verfahren. Neben der potentiellen Azidität, welche die Kulturen erreicht hatten, gelangte auch noch deren virtuelle Azidität mit Hilfe eines Elektroionometers zur Feststellung.

Beträchtliche Unterschiede im Säuerungsvermögen der einzelnen Stämme konnten nicht festgestellt werden (Tab. 5!).

[1]) Erst nach 2 Tagen!

Tab. 5. Säurebildung in Würze.

Stamm-bezeichnung	Gebildete Säure in Säuregraden (n/10 Säure auf 20 ccm)		ph-Werte der Kulturen	
	nach 6 Tagen	nach 10 Tagen	nach 6 Tagen	nach 10 Tagen
coli 1	3,0	3,0	4,38	4,34
coli 2	2,7	3,1	4,60	4,44
aerogenes . .	2,2	2,4	4,28	4,19
W 1	1,5	1,5	4,63	4,65
W 2	1,4	1,6	4,66	4,70
W 4a	1,8	1,5	4,53	4,67
W 4b	1,4	1,7	4,89	4,74
W 5	1,5	1,5	4,46	4,41
W 6a	1,8	2,2	4,70	4,65
W 6b	1,7	1,9	4,65	4,69
W 7	1,0	1,4	4,92	4,92
W 8	1,3	1,1	4,42	4,59
W 9	2,2	2,4	4,28	4,19

Am stärksten ist die Säuerung bei B. coli. Von den übrigen Stämmen bildet aerogenes am meisten Säure, während die Würzebakterien mehr oder minder hinter den Darmbakterien zurückbleiben. Stamm 5 weicht auch in seinem Säurebildungsvermögen von B. coli ab und steht den übrigen Würzebakterien viel näher.

Bei einigen Stämmen wurden auch noch die Mengen der in Würze gebildeten flüchtigen Säure bestimmt und dabei der für die Bieranalyse übliche Weg der Destillation im Dampfstrom eingeschlossen. Es kamen 10—12 Tage alte Kulturen zur Untersuchung. Davon diente je eine zur Feststellung der Gesamtsäurebildung und eine zur Bestimmung der entstandenen flüchtigen Säure (Tab. 6).

Tab. 6. Bildung flüchtiger Säure.

Stammbezeichnung	Flüchtige Säure (n/10 Säure auf 100 g Kulturflüssigkeit)	Gesamtsäure (n/10 Säure auf 100 g Kulturflüssigkeit)
coli 1	8,9	15,8
coli 2	12,6	15,1
aerogenes	4,9	13,1
W 1	2,7	8,1
W 2	4,6	9,2

Es zeigte sich bei diesen Bestimmungsversuchen, daß die Würzebakterien merkliche Mengen flüchtiger Säure bilden, wie dies ja auch für die Bakterien der Coligruppe allgemein zutrifft. Doch sind die einzelnen Ergebnisse der untersuchten Stämme stark voneinander abweichend, ohne daß eine engere Beziehung zwischen nahestehenden Bakterienstämmen deutlich in Erscheinung tritt. Die Bestimmung flüchtiger Säure in den Bakterienkulturen wurde daher nicht weiter zur Einreihung der einzelnen Stämme in Untergruppen herangezogen.

Feststellung der Kohlenstoffquellen.

Neben der Feststellung der Stoffwechselprodukte ist auch die Untersuchung des Verwendungsstoffwechsels, freilich meist mit geringem Erfolg,

dazu benutzt worden, echte Coli bakterien von ihren näheren Verwandten zu unterscheiden. In neuerer Zeit wies Koser (12) darauf hin, daß sich organische Säuren zu derartigen Untersuchungen am besten eignen. So vermag B. coli im Gegensatz zu allen anderen Gasbildnern Zitrate nicht als Kohlenstoffquelle zu verwenden. Dieser Befund Kosers wurde an den schon in Kultur befindlichen Stämmen nachgeprüft. Kulturröhrchen mit je 20 ccm Koserscher Nährlösung wurden mit Bakterien beimpft und im Thermostaten bei 23° 3 Wochen lang aufgestellt. Das Auftreten einer Bakterientrübung galt dann als Zeichen der Brauchbarkeit von Zitrat. Jeder Versuch kam 3mal zur Durchführung. Das Einstellen der Nährlösung auf das von Koser angegebene ph von 6,7—6,8 erfolgte durch vorsichtige, stufenweise Zugabe einiger Tropfen Natronlauge unter gleichzeitiger elektroionometrischer Messung der Wasserstoffionenkonzentration. Es wurde darauf geachtet, daß bei Übertragung der Bakterien merkliche Mengen organischer Stoffe nicht in die Nährlösung gelangten und so eine Entwicklung der Spaltpilze auf Kosten der zur Erprobung gelangenden Kohlenstoffquelle vortäuschten. Einige Tropfen der Würzestammkultur wurden daher zuerst in 10 ccm einer Verdünnungslösung gegeben. Letztere enthielt die gleiche Menge organischer Stoffe, wie Kosers Zitratlösung (ph = 6,4!). Von dieser Aufschlämmung der Bakterien kamen je 2 Tropfen in die mit Koserscher Nährlösung versehenen Proberöhrchen. Es ergab sich, daß nur die echten Coli stämme zum Wachstum in Zitratboden vollkommen unfähig waren. Der gleichfalls herangezogene Aerogenes-Stamm zeigte stets deutliche Vermehrung, ebenso gediehen auch zumeist die Würzebakterien (Tab. 7).

Tab. 7. Wachstum in Kosers Zitrat-Nährlösung.

Stamm-bezeichnung	Kulturergebnisse im 1. Vorsuch	2. Versuch	3. Versuch
coli 1	—	—	—
coli 2	—	—	—
aerogenes . . .	+	+	+
W 1	+	+	+
W 2	+	+	+
W 4a	+	+	+
W 4b	+	+	+
W 5	+	+	+
W 6a	+	+	+
W 6b	+	+	+
W 7	+	+	+
W 8	—	+	+
W 9	+	—	+

Stämme, welche Zitratlösung trübten, zeigten auch weiterhin Vermehrung, wenn sie in diesen Nährboden von neuem übertragen wurden. Umgekehrt versagten die Bakterienstämme, bei denen das erstemal Vermehrung ausgeblieben war, auch wieder, wenn sie in die schon ohne Erfolg geimpften Röhrchen nochmals eingeimpft wurden.

Während die Ergebnisse der Zitratproben sich im großen und ganzen an die bisherigen Befunde anschließen und zeigen, daß in physiologischer Hinsicht das echte Coli bakterium im Gegensatz zu allen anderen Stämmen eine Sonderstellung einnimmt, sind die Ergebnisse anderer synthetischer

Nährböden systematisch von geringerem Wert, da Angaben der Literatur über das Verhalten von Coli bakterien in dieser Hinischt recht widerspruchsvoll sind oder sich aus ihnen ergibt, daß alle Bakterien sich ziemlich gleich verhalten. Die Zuverlässigkeit der Systematik nach Kohlenstoffquellen im allgemeinen ist auch von Singer (20) und Ruchhofft, Kallas, Ben Chin und Coulter (17) neuerdings in Zweifel gezogen worden. Als Beitrag zur physiologischen Beschreibung der Würzebakterien mögen die Ergebnisse der in dieser Richtung ausgeführten Versuche noch kurz angegeben sein.

Statt des Zitrates war zur Koserschen Lösung jeweils die geprüfte Kohlenstoffverbindung in der gleichen Konzentration zugegeben worden. Die Zugabe der Zucker erfolgte in konzentrierter Lösung erst nach dem Sterilisieren. Im übrigen war die Methodik die gleiche, wie bei den Zitratversuchen. Die Wasserstoffionenkonzentration entsprach wieder einem ph von 6,7—6,8. Azetat ergab nur bei einigen Stämmen (W 2, 4b, 5, 6a, 6b und 9) positives Ergebnis. Das Wachstum war recht mäßig. Traubenzucker und Milchzucker ermöglichten stets Vermehrung, ebenso fast durchweg Malzzucker und Rohrzucker.

Asparagin und Pepton erwiesen sich bei allen Stämmen als gute Kohlenstoffquellen. Die Reaktion nicht zuckerhaltiger Nährböden wurde nach der alkalischen Seite verschoben.

Kulturversuche bei höherer Temperatur.

Um die vergleichend physiologische Untersuchung der Stämme auf eine breitere Basis zu stellen, wurde auch der Einfluß höherer Temperaturen auf das Wachstum der Bakterien verfolgt. Schon ein Vorversuch, der mit Stamm 1 bei 36° durchgeführt worden war, hatte gezeigt, daß bei dieser Temperatur eine Vermehrung der Bakterien nicht mehr stattgefunden hatte. In diesem Verhalten gibt sich ein Gegensatz zu dem echter Coli bakterien kund. Nach Eijkman vermag B. coli bei 46° noch merklich Gas zu bilden. Diese Beobachtung wurde später allerdings als nur beschränkt zutreffend erkannt. Hehewerth (8) und Barth (1) fanden, daß von Colistämmen, die aus menschlichem Darm gezüchtet waren, nur etwa ⅓ zur Gasbildung bei 45—46° fähig ist. Des weiteren wiesen auch Brown und Skinner nach (2), daß aus Stuhl isolierte Coli bakterien nur zum Teil noch bei 45° sichtbare Gärung hervorrufen, daß ferner auch typische aerogenes-Stämme und zitratpositive Coli bakterien bei 46° eine positive Gärprobe zu liefern vermögen. Jedenfalls vermehren sich aber sowohl B. coli als B. aerogenes, soweit sie aus dem Darm warmblütiger Tiere gezüchtet wurden, nach allgemein übereinstimmender Angabe stets noch bei 37°. Anderseits wurden auch schon coli artige Bakterien gefunden, die bereits gegen Bruttemperatur empfindlich sind. So stellte Barth bei 16 Proben, welche dem Darm von Mücken, Fliegen und Fischen entstammten, zum Teil kein Wachstum mehr fest. Die den Würzebakterien nahestehenden Bakterien der spontanen Mehlteiggärung vermögen sich allerdings, wie aus Milchkulturen Holligers hervorgeht, noch bei 36° zu vermehren.

Zur Feststellung des Verhaltens der Würzebakterien gegenüber höheren Temperaturen wurden die mit Bakterien beimpften Nährböden einmal bei 37—38° und dann bei 40—41° bebrütet. Neben Würze wurde auch Nährbouillon (von ph = 7,02) als erfahrungsgemäß günstiges Nährmedium ver-

wendet. Die übertragene Bakterienmenge war so gewählt, daß zu Beginn des Versuchs etwa nur der 100. Teil der Zellen vorhanden war, die zur Erzeugung einer sichtbaren Trübung gerade ausreichten. Deutliche Trübung der Bakterienkultur, im Vergleich mit unbeimpftem, gleichartigem Nährboden, galt als Nachweis einer Vermehrung der Bakterien. Es wurden je 40 ccm Kulturflüssigkeit angewendet. Tabelle 8 gibt einen Überblick über das Ergebnis dieser Versuche.

Tab. 8. Wachstum bei erhöhter Temperatur.

Stamm-bezeichnung	Versuchsergebnis			
	in Würze		in Nährbouillon	
	bei 37—38°	40—41°	bei 37—38°	40—41°
coli 1	+	+	+	+
coli 2	+	+	+	+
aerogenes . .	+	+	+	+
W 1	—	—	—	—
W 2	—	—	—	—
W 4a	+	—	+	—
W 4b	—	—	+[1])	—
W 5	+	—	+	—
W 6a	—	—	—	—
W 6b	—	—	—	—
W 7	+	—	+	—
W 8	—	—	—	—
W 9	+	+	+	+

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß auf zwei verschiedenen vorzüglichen Nährböden bei 41° von allen Würzestämmen nur „Würze 9", der auch sonst für aerogenes bezeichnenden Nachweis gibt, ebenso wie die echten Vergleichsstämme der Coli- und Aerogenes-Bakterien, noch zu merklicher Vermehrung gelangt. Alle übrigen Würzebakterien weichen in dieser Hinsicht von den typischen Vertretern der Coli-Aerogenes-Gruppe ab. Beim Stamm 4a, 5 und 7 konnte noch deutlich Wachstum bei 38° festgestellt werden, während die übrigen Würzebakterien schon bei dieser Temperatur sich nicht mehr vermehren. Wenn somit auch durch den Versuch zum Ausdruck kommt, daß die Bakterien der Würze gegenüber höheren Temperaturen empfindlicher sind als B. coli und B. aerogenes, so ist diese Feststellung doch von geringerer systematischer Bedeutung. Das Temperaturmaximum der einzelnen Stämme ist verschieden und reicht zum Teil mit 38—40° schon nahe an das mancher echter Colibakterienstämme heran.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Schon das bei den ersten Kulturversuchen beobachtete Gasbildungsvermögen der verschiedenen, aus Würze gewonnenen Kurzstäbchen, sowie auch deren Säurebildung spricht dafür, daß jene Würzeverderber alle zur bekannten Coli-Aerogenes-Gruppe in Beziehung stehen. Tabelle 9 gibt nun über die systematische Stellung dieser Bakterien nähere Auskunft. Dabei wurden diejenigen Stämme jeweils zu einer Gruppe zusammengefaßt, welche sich bei allen Untersuchungen gleich verhielten.

[1]) Sehr schwache Trübung!

Tabelle 9.

Typus	Zahl der Stämme	Beweglichkeit	Indolbildung	Gelatineverflüssigung	Zitratverwendung	V.P.-Probe	Säurebildung in Würze	Vermehrung bei 37°	Vermehrung bei 40°
albidoliquefaciens I (W 1, 2, 6a, 6b, 8)	5	+	—	+	+	+	1,1—2,2°	—	—
albidoliquefaciens II (W 4a, 4b) . .	2	+	—	+	+	+	1,5—1,7°	+	—
levans (W 5) . .	1	+	—	—	+	+	1,3°	+	—
luteoliquefaciens (W 7)	1	—	—	+	+	+	1,4°	+	—
aerogenes (W 9) .	1	—	—	—	+	+	2,2°	+	+
aerogenes (Vergleichsst.) . . .		—	—	—	+	+	2,4°	+	+
B. coli (Vergleichsstämme)		+	+	—	—	—	3,0—3,1°	+	+

Die Übersicht zeigt, daß alle aus den verschiedenen Proben isolierten echten Würzebakterien zur Untergruppe aerogenes-cloacae der Coligruppe gehören. Fünf der untersuchten zehn typischen Würzestämme können als gleichartig gelten. Einen geringfügigen Unterschied zeigen sie eigentlich nur hinsichtlich des Säuregrades, den sie erreichen. Zwei weitere Stämme weichen dadurch von den fünf zusammengehörigen ab, daß sie bei 37° noch gedeihen. Wie aus den Temperaturversuchen hervorgeht, ist diesem Befund keine allzu große diagnostische Bedeutung beizulegen. Alle diese 7 Stämme sind als zu einer Art gehörig anzusehen und wegen der schwachen Gelatineverflüssigung, welche sie hervorrufen, als Bacterium albidoliquefaciens in das System von Lehmann und Neumann einzureihen.

Würzestamm 5 stellt anscheinend das von Wolffin gefundene Bacterium levans dar. Es ist beweglich, verflüssigt Gelatine nicht und gibt sonst für aerogenes bezeichnende Stoffwechselreaktionen. Kürzlich haben Grimes und Hennerty (6) ein gleiches Kurzstäbchen aus Butterproben isoliert. Der von ihnen beschriebene „Aerobacter Hibernicum" ist beweglich, verflüssigt Gelatine nicht, bildet kein Indol, wohl aber Azetoin und vermehrt sich auf Zitratnährboden.

Wegen der stärkeren Gelatineverflüssigung, die Würzestamm 7 bewirkt, und seines gelben Farbstoffes scheint dieser B. luteoliquefaciens sehr nahezustehen. Da jedoch unter diesem Namen ein begeißeltes Bakterium beschrieben wird, kann man Bedenken tragen, diese unbeweglichen Kurzstäbchen jener Bakterienart vollkommen gleichzustellen.

Bei „Würze 9" hat wohl Bacterium aerogenes vorgelegen. Dies ist nach allen Versuchen unzweideutig erwiesen.

Aus den Untersuchungen ergibt sich demnach folgendes Bemerkenswerte:

1. Das schon von anderen Autoren bei gelegentlicher Reinzüchtung einzelner Würzebakterien festgestellte Gasbildungs- und Säuerungsvermögen konnte bei allen neuerdings untersuchten, aus gehopfter Würze gezüchteten Bakterienstämmen wieder beobachtet werden.

2. Ferner bestätigte sich, daß die Mehrzahl der Würzebakterien zu allerdings meist nur langsamer Gelatineverflüssigung befähigt ist.

3. Sämtliche aus Würze isolierten echten Würzebakterienstämme erwiesen sich bei weiterer Prüfung als peritrich begeißelt oder unbegeißelt, als indolnegativ, Voges-Proskauer positiv, zitratpositiv und gehören somit zu der von Singer und Minkewitsch aufgestellten Untergruppe aerogenes-cloacae der Colibakterien. Es handelt sich bei diesen Kurzstäbchen vermutlich um dieselben, Gelatineböden nicht oder langsam verflüssigenden, lebhaft gasbildenden Bakterien, welche schon wiederholt bei Untersuchung der spontanen Mehlteiggärung gefunden wurden.

4. Das Temperaturmaximum der Würzebakterien liegt im allgemeinen niedriger als das der ihnen nahestehenden B. coli und B. aerogenes.

Anhang.

Kluyver und Hoppenbrouwers haben jüngst die gasbildende Pseudomonas Lindneri (= Termobacterium mobile Lindner) eingehender untersucht (11) und dabei die Ansicht geäußert, daß die Termobakterien der Brauerei der Gattung Pseudomonas einzureihen seien. Da nach allgemeiner Angabe der Literatur die Würzebakterien als ein wesentlicher Bestandteil der Termobakterienflora anzusehen sind, trifft dies sicher nicht allgemein zu. Von den bei obigen Untersuchungen reingezüchteten Würzestämmen war kein einziger lophotrich begeißelt. Auch zu Pseudomonas Lindneri stehen die Würzebakterien nicht in näherer Beziehung. Schon ihre Gärungsform ist eine andere, als die bei jenem Bakterium gefundene. Während letztere im Smithschen Gärröhrchen reine alkoholische Gärung erzeugt und daher nur Kohlensäuregas bildet, wiesen die Gase der Würzestämme, wie zahlreiche Versuche zeigten, stets einen beträchtlichen, durch Kalilauge nicht absorbierbaren Anteil auf. Ferner bildet Ps. Lindneri nur Spuren von Azetyl-Methyl-Karbinol. Sie ist also in ihrem Stoffwechsel reichlich von den Bakterien der Würze verschieden.

Für Anregung zu dieser Untersuchung, sowie für Bereitstellung von Mitteln zu deren Ausführung fühlt sich der Verfasser seinem Chef, Herrn Professor Dr. Hans Schnegg, Vorstand des Gärungsphysiologischen Instituts der Technischen Hochschule München, zu großem Dank verpflichtet. Herrn Privatdozenten Dr. Demeter, Weihenstephan, sei für Überlassung von Coli- und Aerogenes-Stämmen, sowie von erprobten Reagentien für den Indolnachweis, den Herren Dr. Kettner und Niedermayer für Überlassung von Würzeproben aus der Brautechnischen Versuchsstation in Weihenstephan der gebührende Dank zum Ausdruck gebracht.

Schrifttum.

1. Barth, E., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 115. 1930. — 2. Brown and Skinner, Journ. Bact. Vol. 20. 1930. — 3. Demeter, K. J., Milchwirtschaftl. Zentralbl. 58. 1929. — 4. Frieber, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. — 5. Geilinger, H., Mitteil. a. d. Gebiete d. Lebensmitteluntersuchungen u. Hygiene v. eidgenöss. Gesundheitsamt. 12—14. 1921—1923. — 6. Grimes und Hennerty, Scient. Proceedings Royal Dublin Soc. Vol. 20. 1931. — 7. Hees und Tropp, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 100. 1926. — 8. Hehewerth, F. H., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. — 9. Holliger, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1902. — 10. Klimmer, Haupt und Borchers,

Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 9. 1930. — 11. Kluyver und Hoppenbrouwers, Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 2. 1931. — 12. Koser, S. A., Journ. Bact. Vol. 8. 1923; Vol. 9. 1924. — 13. Levine, M., Journ. Bact. Vol. 1. 1916. — 14. Levy, F., Archiv f. Hyg. Bd. 49. 1904. — 15. Lindner, P., Mikroskopische und Biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 6. Aufl. 1930. — 16. Minkewitsch, I. E., Ztschr. f. Hyg. u. Infekt.krankh. Bd. 111. 1930. — 17. Ruchhofft, Kallas, Ben Chinn and Coulter, Journ. Bact. Vol. 22. 1931. — 18. Schachner, J., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 76. 1928. — 19. Schnegg, H., Das Mikroskopische Praktikum des Brauers. II. Teil. 1922. — 20. Singer, E., Die Bakteriologische Untersuchung des Trinkwassers 1931. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 95. 1929. — 21. Werkman, C. H., Journ. Bact. Vol. 20. 1930. — 22. Wolffin, A., Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggärung. (Diss.) Würzburg 1894. — 23. Zeidler, Wochenschr. f. Brauerei. 1890. — 24. Zikes, H., Mitteil. österr. Versuchsstat. Brauerei u. Mälzerei, Wien. Bd. 11. 1903. — 25. Zikes, H., Allgem. Ztschr. f. Brauerei u. Malzfabrikation. Bd. 9. 1920.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Körnchenbildung beim Bac. bulgaricus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz (Vorstand Professor W. Prausnitz).]

Von **L. v. Wikullil.**

Luerssen und Kühn isolierten aus der bulgarischen Sauermilch zwei Typen von Bakterien, die sie als Bac. bulgaricus und als Körnchenbazillus bezeichneten. Das letztere Stäbchen unterscheidet sich nach Ansicht dieser Autoren vom Bac. bulgaricus in folgenden Punkten: 1. Durch sein Verhalten bei der Neisser-Färbung; es nimmt Körnchenfärbung an, ein Verhalten, das nicht immer ganz regelmäßig ist; jedoch soll auch bei schlechtem Wachstum ein Drittel der Bazillen reagieren. 2. Durch seine schlankere Form und seine große Neigung zur Kettenbildung. 3. Die Kolonien des Körnchenbazillus sind auf Milchagar locker und lockig, ganz durchscheinend, von einem halben bis 2 mm Durchmesser, kleiner und feiner als die Milzbrandkolonien; in der Tiefe bilden sie Locken, Knäuel und Strähne. Die Kolonien des Bac. bulgaricus hingegen werden erst nach 2 bis 3 Tagen 2—3 mm groß, sind flach und glattrandig, ziemlich durchscheinend, bei durchfallendem Licht leicht dunkelgelb und leicht gekörnt. Die alten Kolonien sind in der Mitte fein wellenförmig, die Tiefenkolonien kugelig. 4. Der Körnchenbazillus wächst bei einer niedrigeren Temperatur als der Bac. bulgaricus. Er entwickelt sich zwischen 37° und 45° C. Er wächst nicht mehr bei 22° C und höchst spärlich bei 50° C, während Bac. bulgaricus bei 45—50° C am besten gedeiht. 5. Die Milch wird vom Körnchenbazillus zwischen 37° und 40° C schnell und stark koaguliert, während Bac. bulgaricus erst nach einigen Tagen bei der gleichen Temperatur die Milch locker gerinnen läßt.

Die späteren Autoren sind in betreff der Körnchenfrage verschiedener Ansicht. Kuntze fand zeitweise bei seinen Stämmen Körnchen bei einer geringen Zahl von Bazillen, Kleeberg hält das Vorhandensein von Körnchen als integrierenden Bestandteil von Bac. bulgaricus, während Schlirf wiederum nur zeitweise Körnchen fand, die sich aber nicht nach Neisser färbten. Es herrscht also im Schrifttum über die Frage

der Körnchenbildung bei Bac. bulgaricus Verwirrung. Diese zu klären sei der Zweck der folgenden Zeilen.

Es standen zu den folgenden Untersuchungen 5 Stämme aus Yoghurtpräparaten verschiedenster Herkunft zur Verfügung. Es handelte sich um grampositive, unbewegliche Stäbchen, die auf Milch bei einer Temperatur von 37—52° C ganz ausgezeichnet gediehen, dort in den ersten Tagen der Bebrütung bei einer Temperatur von 37° und 50° C keine Neigung zur Kettenbildung zeigten, hingegen nach 5—6tägiger Bebrütung bei 37° C und nach ganz kurzer Zeit bei 52° Ketten bildeten. Die Milch koagulierte verschieden schnell, auch bei den einzelnen Stämmen. Meist war sie bei einer Temperatur von 37° C nach 24 Std. geronnen, doch kam es auch vor, daß erst nach 48 Std. eine Gerinnung eintrat. Auf milchhaltigem Agar waren die Kolonien nach 24 Std. flach, glattrandig, leicht gekörnt und durchscheinend. Lockenbildung war manchmal nachzuweisen. Auf gewöhnlichen Nährböden ohne Milchzusatz (Agar-Agar, Ascites-Agar, Endo, Bouillon) trat niemals Wachstum ein, weder bei 37° noch bei 50° C, auch nicht nach mehrtägiger Bebrütung. Was die Bildung der Körnchen anlangt, die sich mit der Färbung nach Neisser und mit polychromatischem Methylenblau gut darstellen ließ, so zeigte diese Erscheinung ein eigenartiges Verhalten. In auf Milchagar (10 ccm 2% Agar + 2 ccm steriler Milch) gewachsenen Bazillen ließen sich niemals Körnchen nachweisen, sondern zeigten die gefärbten Bazillenleiber sowohl bei der Neisser-Färbung als auch nach der Behandlung mit Methylenblau ein homogenes Aussehen. Auf steriler Milch gezüchtet, auch wenn von einer körnerlosen Milchagarkolonie abgeimpft wurde, fanden sich nach 24 Std. bei 37—52° C in den Bazillen sehr zahlreiche Körner, die sich mit der Neisser-Färbung schwarz, bei Behandlung mit Methylenblau blaurot vom Bazillenleib abhoben. Bei weiterem Verbleiben im Brutschrank nahm die Zahl der gekörnten Bazillen ab, um nach 4—5tägigem Aufenthalt bei 37° C oder nach einer etwas kürzeren Zeit bei den höheren Temperaturen langsam nur mehr ungekörnten Bazillen Platz zu machen. In neuerlichen Milchsubkulturen trat aber sofort wieder Körnerbildung auf. Es ist also das Erscheinen der Körner im Bac. bulgaricus an das Nährmedium gebunden, ähnlich wie bei den Diphtheriebazillen, die auch nur unter bestimmten Umständen zur Polkörnerbildung angeregt werden. Da diese Körnerbildung im Bac. bulgaricus nur eine Entwicklungsphase auf einem bestimmten Nährboden (Milch) darstellt, ist es erklärlich, daß sie manchen Autoren, die diese Bazillen nicht auf reiner Milch, sondern auf milchhaltigen Nährböden züchteten, nicht zu Gesicht kamen und ihr auch auf diesem Nährboden nur zeitweises Auftreten Anlaß zur Verwirrung geben konnte.

Eine andere Frage ist die nach der Natur dieser Körnchen. Der positive Ausfall der Färbung nach Neisser und ihr nur zeitweises Auftreten macht es wahrscheinlich, daß sie von gleichen oder mindestens sehr ähnlichen chemischen Substanzen aufgebaut sind, wie die der Diphtheriebazillen. Über das färberische Verhalten der Diphtheriepolkörner hat Schumacher eingehende Untersuchungen angestellt. Es soll nun festgestellt werden, ob sich die beiden Körnchensubstanzen färberisch gleich verhalten und seien darum im folgenden eine Reihe von Färbungsmethoden angeführt.

1. Giemsafärbung. 10 Tropfen Giemsalösung in 10 ccm destilliertem Wasser. Färbedauer 20—30 Min. (nicht überfärben!). Körner bei beiden Bakterien blaurot, Bazillenleib blau.

2. Methylenblaufärbung. 1 Teil alkoholische Stammlösung polychromatischen Methylenblaus mit 4 Teilen destilliertem Wassers verdünnt. Färbedauer ½—1 Min. Körner rot oder blaurot (je nach Färbedauer), Bazillenleib blau.

3. Neisser-Färbung. 2 Teile essigsaures Methylenblau (Methylenblau 2 g, Alkohol abs. 40 ccm, Eisessig 100 ccm, Aqua dest. 2000 ccm) und ein Teil Kristallviolett (Kristallviolett Höchst 1 g, Alkohol abs. 10 ccm, Aqua dest. 300 ccm) werden gemischt, damit 1 Min. gefärbt, Wasserspülen. Gegenfärben mit Bismarckbraun (Bismarckbraun 8 g in 1200 ccm heißem Wasser gelöst und filtriert). Körner schwarzbraun, Bakterienleib braun.

4. Methylenblau-Chinin-Eosinfärbung. Präparate färben mit Karbol-Methylenblaulösung (Acid. carbol. liquef. 2 ccm, Aqua ad 100, darin wird 1 g Methylenblau gelöst, Filtrieren). Abspülen mit Wasser. Darauf wird das Präparat in einer 1% Lösung von Chinin, hydrochlor. bis zur makroskopischen Entfärbung differenziert. Abspülen, ½ Min. lang nachfärben mit einer Lösung aus gleichen Teilen, einer 1% Eosin- und 10% Taninnlösung. Körner blau, Bazillenleib rot.

5. Methylenblau-Phosphin-Färbung. Die Präparate werden 1 Min. lang mit einer 1% Karbol-Methylenblau-Lösung kalt gefärbt, Abspülen mit Wasser, darauf kommen die Präparate in eine Kuvette mit 1% wässeriger Phosphinlösung (Grübler), in der sie unter Hin- und Herbewegen ca. 1 Min. differenziert werden. Körner grün, Bazillenleib gelb. Bei sämtlichen Färbemethoden zeigten Polkörner der Diphtherie und die Körnchen des Bac. bulgaricus das gleiche Verhalten.

Es ist daher eine Identität der aufbauenden Substanz anzunehmen. Für die chemische Zusammensetzung dieser Substanz ist die Methylenblau-Phosphin-Färbung von Interesse. Nach Schumacher, der auf der Arbeit von Meyer aufbaut, ist sie eine Identitätsreaktion auf freie Nucleinsäure, die also sowohl bei den Diphtheriebazillen als auch beim Bac. bulgaricus die Körnchenfärbung bedingt und unter bestimmten Verhältnissen im Bakterienleib vorhanden ist.

Zusammenfassung: Die Körnchenbildung im Bac. bulgaricus tritt nur zeitweilig bei der Kultur in Milch auf. Dadurch können die verschiedenen Ansichten der Autoren über das Vorhandensein oder Fehlen von Körnern im Bac. bulgaricus bedingt sein. Färberisch verhalten sich die Polkörner der Diphtherie und die Körnchen des Bac. bulgaricus bei einer Reihe von Färbemethoden vollkommen gleich und geben beide eine färberische Identitätsreaktion auf freie Nucleinsäure.

Literatur.

Luerssen, A., und Kühn, M., Yoghurt, die Bulgarische Sauermilch. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1908. S. 234.) — Kuntze, Studien über formentierte Milch. (Ebenda. Bd. 21. 1908. S. 737.) — Schlierf, K., Zur Kenntnis der „azidophilen" Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 97. 1926. S. 104.) — Weil, A., Die bakteriologische Kontrolle des Yoghurt. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 69. 1927. S. 321.) — Kleeberg, Studien über Yoghurt und Kefir. (Ebenda. S. 1.) — Schumacher, Welche chemische Substanz baut die Polkörner des Diphtheriebazillus auf? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 88. 1922. S. 362.) — Meyer, A., Die Zelle der Bakterien. Jena 1912.

Nachdruck verboten.

Bemerkung zu den Ausführungen von C. Wehmer.

(Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 166.)

Von **Ernst Simon.**

Unlängst habe ich mitgeteilt[1]), daß echte Milchsäurebakterien befähigt sind, aus Kohlenhydrat Methylglyoxal zu bilden und zugefügtes Methylglyoxal wie Phenylglyoxal zu den entsprechenden Oxysäuren zu dismutieren. Bei dieser Gelegenheit habe ich auch Fehler aufgedeckt, die Schrader[2]) in methodischer Hinsicht wie bei Wahl der Substrate unterlaufen waren. Tatsache ist, daß mir bei richtig gewählter Versuchsanordnung und mit einwandfreiem Ausgangsmaterial die Lösung der Aufgabe gelungen ist, Methylglyoxal in Milchsäure umzuwandeln. Damit sind anders lautende Behauptungen Schraders entkräftet; der Grund für den negativen Ausfall seiner Versuche wurde klargestellt. Wenn C. Wehmer meine Befunde bedauerlicherweise als Angriffe auffaßt, so muß Stellungnahme zu solcher Anschauung abgelehnt werden. In sachlicher Hinsicht ist befremdlich, daß der Mißerfolg Schraders der Präparatenfirma (Schuchardt) zugeschoben wird. Es muß nochmals ausgesprochen werden, daß Schraders Versuche zur Vergärung des Methylglyoxals verfehlt gewesen sind; denn er hat mit einer Substratlösung operiert, die, wie meine Nachprüfung lehrte, überhaupt kein Methylglyoxal enthalten konnte, und das hat der Autor gar nicht bemerkt. Sein Substrat war Salzwasser, aber weder Kohlenhydrat noch Zuckerspaltungsprodukt. Deshalb ist der Umstand nicht verwunderlich, daß eine solche Flüssigkeit, in der Schrader eine 0,2 bis 1,0proz. Methylglyoxallösung vor sich zu haben glaubte, kaum Bakterienentwicklung zuließ. Da Wehmer dies jetzt für „sehr wohl möglich" hält, hätte sich eigentlich jede weitere Diskussion seinerseits erübrigt. Durch meine Experimente ist der bündige Nachweis erbracht, daß man, mit wirklichem Methylglyoxal arbeitend, die Konzentration herabsetzen muß, da echte Milchsäurebakterien gegenüber zugefügtem Methylglyoxal eine geringere Toleranz aufweisen. Unverständlich bleibt, warum Schrader rohe Glycerose, um deren Natur als ein Gemisch toxischer Substanzen er nach jetziger Behauptung wußte, für derartig diffizile Untersuchungen verwendete. Mit der Frage, ob Glyzerin von Milchsäurebakterien vergoren wird, habe ich mich nicht beschäftigt. Die negativen Versuche Schraders, Milchsäurebakterien auf Glyzerin zu Wachstum und Säurebildung zu bringen, habe ich absichtlich übergangen, weil Glyzerin im Gegensatz zum Methylglyoxal gar keine Beziehung zum eigentlichen Zuckerstoffwechsel der Milchsäurebakterien hat. Eine Verwechslung liegt vor, wenn die Benutzung eines „Fermentpräparats" bemängelt wird. Dabei ist die Unterstellung unbegründet, daß die volle Abtötung der Bakterien behauptet sei. Sie ist, was der Autor übersieht, nämlich gleichgültig, da es sich bei Verwendung des Fermentpräparats ja nicht um Dismutation von Methylglyoxal handelt, sondern um die experimentell herbeigeführte Schwächung der Erreger zwecks Ansammlung von Methylglyoxal. Der Vergleich, den der Autor mit isolierter, von ihm nicht als Enzym betrachteter Zymase

[1]) Simon, E., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 85. 1932. S. 269.
[2]) Schrader, H., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 84. 1931. S. 1.

ziehen möchte, erscheint unzulässig; denn es herrscht wohl Einigkeit darüber, daß „Zymase" nicht ein einziges Ferment, sondern ein Fermentsystem bedeutet und größere Empfindlichkeit als gegen Zucker gegenüber Abbaustufen desselben besitzt, sobald diese in fertigem Zustande hinzugegeben werden. Was dagegen sprechen soll, daß bei vorsichtigem bakteriologischen Arbeiten eine gründliche dreimalige, 1½stündige Sterilisation der Nährflüssigkeit (nicht Versuchslösung!) vorgenommen wird, namentlich wenn es sich um 30—60 l Flüssigkeit handelt, entzieht sich meiner Einsicht. Die glänzende Ernte an Mikroben in Reinkultur bezeugt die Zweckmäßigkeit dieser praktisch erprobten Maßnahme. Eine Möglichkeit, die Verf. nebenbei diskutiert, Milchsäure könne in den Bakterien vorgebildet sein, wäre schon deshalb absurd, weil ja in den Versuchen mit Phenylglyoxal dann Mandelsäure präformiert sein müßte, was einzig dastände. Wehmer beanstandet meine Nomenklatur. Die Namengebung stammt jedoch nicht von mir, sondern von hervorragenden Fachmännern, wie Burri, Henneberg, Grimmer. Der Vorwurf ist außerdem überraschend, da Wehmer selber an wichtiger Stelle auf die Anführung synonymer Bakteriennamen verzichtet[1]). Ich versage mir eine Schlußfolgerung, verweise vielmehr auf eine grundlegend wichtige Arbeit Orla-Jensens[2]). Dieser bedeutende Kenner des Gebietes betont nachdrücklich die Launenhaftigkeit der Milchsäurebakterien unter ungünstigen Bedingungen und zeigt, daß zugegebenes Methylglyoxal — weit entfernt von Entfaltung einer Giftwirkung — die Milchsäuregärung aktiviert.

Von allen diesen Punkten abgesehen muß mit Resignation, nicht wie der Autor möchte, mit Erregung, die Diskussion geschlossen werden, wenn ein Autor den Begriff der Zellgifte ausschaltet und die durch vielfältige Erfahrung erhärtete Lehre außer acht lassen will, daß es einen biochemischen Unterschied macht, ob eine reaktionsfähige Substanz im normalen Geschehen in statu nascendi sofort umgesetzt oder in relativ großen Mengen hinzugefügt und dann verarbeitet wird.

[1]) In Ullmanns Enzyklopädie d. techn. Chemie. Bd. 7. 1931. S. 758.

[2]) Orla-Jensen, S., IX. Congrès international de laiterie. (Compte rendu. Copenhague 1931. S. 175.)

Referate.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Winogradsky, S., Sur la décomposition aérobie de la cellulose par les bactéries. Travaux récents. (Bull. Inst. Pasteur. T. 30. 1932. p. 369—379.)

Verf. unterzieht sich hier der Aufgabe, unsere derzeitigen Kenntnisse von den aeroben zellulosezersetzenden Mikroorganismen kritisch zusammenzufassen.

Als wichtigste und zugleich sonderbarste Form gilt immer noch die von Hutchinson u. Clayton entdeckte „Spirochaeta cytophaga", die keine Spirochaete ist und deshalb vom Verf. in „Cytophaga" umbenannt wurde. Umstritten ist ihr Entwicklungsverlauf. Nach den Entdeckern soll die stets beobachtete schmalfädige, an den Enden zugespitzte vegetative Zelle ein Ruhestadium, das kokkenförmige „Sporoidstadium", durchmachen. Diese runden Gebilde sollen dann wieder zu den feinfädigen Vegetationsformen auskeimen. Dieser nicht eindeutig bewiesene Zyklus ist vom Verf. angezweifelt worden, wird aber neuerdings von Krzemieniewska abermals als zu Recht bestehend erachtet. Das „Sporoidstadium" hält sie für eine Entwicklungsform, ähnlich den Mikrozysten der Myxobakterien. Verf. glaubt aber, daß die kugelförmigen Gebilde möglicherweise mit den Zellulosezersetzern nichts zu tun haben. Er möchte das Ruhestadium im Lebenszyklus dieses eigenartigen Organismus eher in den winzigen, stark färbbaren Kügelchen erblicken, die sich in den vegetativen Zellen bilden. Der gleichen Ansicht ist Bokor, der aber im Gegensatz zum Verf. annimmt, daß aus diesem Ruhestadium ein typisches Actinomyces-Myzel auskeimt, das dann erst in die bekannten spitzfädigen Einzelzellen zerfällt, in denen die kugeligen Ruheformen entstehen. Er nennt den Organismus deshalb „Actinococcus cytophagus". Verf. hält aber auch hier die Möglichkeit für gegeben, daß die Bokorsche Kultur eine Mischung aus Actinomyces und „Cytophaga" und keine Reinkultur darstellt. Keinesfalls aber sei Bokors „Mycococcus" identisch mit Hutchinsons „Spirochaeta". Man kann es nur unterstreichen, wenn Verf. meint, daß das Bestehen eines der beschriebenen Entwicklungszyklen erst dann bewiesen sei, wenn er an einer Einzellkultur oder fortlaufend am lebenden Material beobachtet ist. Daneben besteht nach Ansicht des Ref. auch die Möglichkeit, daß alle Autoren verschiedene Mikroben in Händen hatten.

Diesen streng aeroben Formen stehen gegenüber die mehr fakultativ anaerob zu nennenden von Kalnins. Es sind monotrich begeißelte Vibrionen, die dem „Cellvibrio" Winogradskys ähneln. Was sie ferner ganz besonders von der Gruppe „Cytophaga" unterscheidet, ist ihre Fähigkeit, außer Zellulose noch viele andere einfachere organische Kohlenstoffverbindungen anzugreifen. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Zellulose und Glukose ist erstere vor Zersetzung geschützt. Verf. weist mit Recht darauf hin, daß solche Bakterien deshalb nicht als eigentliche Zellulosezersetzer anzusehen sind. In der freien Natur werden sie jedenfalls kaum als solche tätig sein. In diese Gruppe gehören auch die von Simola beschriebenen Bac. myxogenes und Bac. mucosus. Sie sind ebenfalls nicht auf Zellulose spezialisiert und auch nicht obligat aerob. Simola

beschreibt als Stoffwechselprodukt eine Säure vom Typus einer Huminsäure. Das stände in Analogie zur Ansicht des Verf.s, daß der gefärbte Schleim von „Cytophaga" ebenfalls eine Huminsäure darstellt.

Abschließend stellt Verf. noch einmal die zuletzt beschriebenen Bakterien von Kalnins und Simola als fakultative Zellulosezersetzer der „Cytophaga"-Gruppe als den obligaten Zellulosezersetzern gegenüber. Bortels (Berlin-Dahlem).

Cook, R. P., and Alcock, R. S., The effect of hydrogen ion concentration on some oxidations by B. coli communis. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 523—533.)

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Oxydation von Formiaten, Laktaten und Succinaten durch toluolbehandelte Colibakterien wird unter aeroben und anaeroben Bedingungen studiert. Die anaerobe Oxydation in Gegenwart von Methylenblau verläuft im neutralen bis schwach alkalischen Milieu am lebhaftesten. Mit wachsenden ph-Werten steigt die ph-Aktivitätskurve für Formiat bis zum ph = 7,0, für Laktat bis ph = 7,4 und für Succinat bis ph = 8,5 an. Etwa bei ph = 9,5 fallen alle Kurven wieder ab. Die für die aerobe Oxydation der drei Substrate erhaltenen ph-Aktivitätskurven ähneln in ihrer allgemeinen Gestalt den Kurven für die Dehydrogenase, nur sind die Optima nach der sauren Seite verschoben. Das aerobe Oxydationssystem und die Dehydrogenasen werden mit fallendem ph in der Reihenfolge Succinat, Laktat, Formiat inaktiviert. Im alkalischen Gebiet ist die Wirkung nicht so ausgeprägt. R. Koch (Berlin).

Cook, R. P., Haldane, I. B. S., and Mapson, L. W., The relationship between the respiratory catalysts of B. coli. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 534—550.)

Die in toluolbehandelten Colibakterien enthaltenen Atmungskatalysatoren, welche die aerobe oder anaerobe Oxydation von Succinat zu Fumarat, von Laktat zu brenztraubensaurem Salz und von Formiat zu Bikarbonat katalysieren, sind durch ihre verschiedene Empfindlichkeit gegenüber Giften unterscheidbar. Die bei der aeroben Oxydation beteiligten Sauerstoffaktivatoren werden durch KCN und CO in verschiedenem Maße gehemmt. Die anaerobe Oxydation durch Methylenblau wird weniger durch KCN und CO als durch andere Stoffe gehemmt, welche mit Cu Komplexsalze bilden. Daraus wird geschlossen, daß die Ameisensäuredehydrogenase Kupfer enthält. Verff. diskutieren die Art des Zusammenwirkens der bei der Atmung beteiligten Katalysatoren auf Grund ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen Giftstoffen. R. Koch (Berlin).

Cook, R. P., and Haldane, I. B. S., The respiration of B. coli communis. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 880—887.)

Die Oxydation von Glukose, Succinat und Laktat durch Bact. coli bei 16° wird während mehr als 1 Std. immer lebhafter, ohne daß die Oxydationsgeschwindigkeit ein Maximum erreicht. Dies läßt auf die allmähliche Entstehung von Nebenprodukten schließen. Formiat speziell wird durch Bact. coli viel rascher oxydiert als durch Hefe oder tierische Gewebe. Aus der Tatsache, daß die Wirkungen von CO oder HCN auf diese Oxydationen ebenso wie bei den toluolbehandelten Organismen stark voneinander abweichen, ersehen die Verff. eine Bekräftigung ihrer Meinung, daß drei verschiedene Oxygenasen in der Zelle vorhanden sind. R. Koch (Berlin).

Quastel, I. H., and Wheatley, A. H. M., The action of dyestuffs on enzymes. I. Dyestuffs and oxidations. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 629—638.)

Verff. untersuchten die Wirkung von 29 Farbstoffen auf die Oxydation von Glukose, Laktat, Succinat und Formiat durch Bact. coli. Die basischen Farbstoffe wirken stark giftig, die sauren sind fast oder ganz unwirksam. Die Giftigkeit der Farbstoffe ist unabhängig von ihrer Konstitution, aber abhängig von der Natur des verwendeten Pufferstoffes. Die Wirkung von Farbstoffen auf die Oxydation von Succinat durch Muskelgewebe ist ähnlich der bei Bact. coli gefundenen, während die Oxydation durch Hirnsubstanz durch Farbstoffe nicht beeinflußt wird.

R. Koch (Berlin).

Silberstein, F., Rappaport, F., und Kolmer, E., Versuche einer Differenzierung innerhalb der Coli-Gruppe. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 32—40.)

Auf „Siazucker"-Nährboden (Sia-Zucker stellt einen von den I. G. Farben in den Handel gebrachten Sorbit dar) lassen sich zwei verschiedene Colitypen unterscheiden. Obgleich sich diese Typen durch Passagen auf geeigneten Nährmedien ineinander überführen lassen, so sind sie doch unter gewissen, allerdings noch nicht restlos geklärten Versuchsbedingungen scharf differenzierbar. Bei Karzinomkranken tritt der eine Typ in den Vordergrund.

Rodenkirchen (Duisburg).

Gottschalk, H., Über die Beeinflussung der oligodynamischen Wirkung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 123. 1932. S. 468—477.)

Die Prüfung verschiedener Faktoren für die oligodynamische Silberwirkung auf Bact. coli ergab folgendes: Während die Keimkonzentration und der Salzgehalt von Quellwasser den oligodynamischen Effekt nicht wesentlich beeinflussen, sind die Menge des keimhaltigen Wassers im Verhältnis zur Größe der Silberoberfläche sowie die Temperatur des Wassers sehr bedeutungsvoll. Höhere Temperatur beschleunigt sowohl die Lösung des Silbers wie auch die Bakterienabtötung durch das gelöste Silber. Sauerstoff wirkt auf die Auflösung des Silbers hemmend, auf die Vergiftung der Bakterien durch das gelöste Silber dagegen verstärkend.

Rodenkirchen (Duisburg).

Seiffert, W., Untersuchungen über die Variabilität boviner Tuberkelbazillen. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 74. 1932. S. 116—159.)

Bei mehreren Stämmen vom Typus bovinus wurde eine schwere Stoffwechselstörung (eine krankhafte Steigerung normaler Stoffwechselvorgänge) beobachtet, die infolge Aktivierung der Eiweißverdauung zu abnorm starker Granulabildung führte. Es handelt sich dabei also um eine dem d'Herelleschen Phänomen recht ähnliche Erscheinung. Die Granula werden für deformierte, unbelebte Teile des Bazillenleibes gehalten, da sich die granulahaltigen Bakterien in ihrem Wachstum schwer geschädigt erwiesen. Sie entwickelten sich entweder überhaupt nicht oder bildeten kümmerliche Nebenformen oder gänzlich anormale Riesenformen oder starben innerhalb kürzester Zeit ab. — Beziehungen zwischen Koloniebild und Pathogenität: sämtliche R-Formen erwiesen sich — analog den Verhältnissen bei den übrigen Bakterien — als apathogen, sämtliche S-Formen als pathogen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Kuhn, Ph., Über die C-Form des Tuberkelbazillus. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 74. 1932. S. 93—99.)

Verf. lehnt den von Calmette, Much und anderen beobachteten Pleomorphismus der Tuberkelbazillen ab. Nach ihm liegt Dimorphie vor. Aus Stäbchen, die auch zu Fäden auswachsen können, entwickeln sich Kokkenformen, die C-Formen. Diese werden mit den von Much beschriebenen grampositiven Granula identisch erklärt. Durch Ammoniakbehandlung und Erhitzung flüssiger Tuberkelbazillenkulturen konnten die an sich sehr empfindlichen C-Formen in Sonderkulturen gewonnen werden, die auf Kuß-Agar langsam zu zarten, flachen Kolonien auswuchsen. In diesen erschienen, außer einzelnen säurefesten Stäbchen, auch nichtsäurefeste Stäbchen, aus denen sich Pettenkoferien entwickelten. Diese sollen mit den Tuberkelbazillen, wie übrigens mit allen Bakterien, in Symbiose leben. Die Untersuchungen über die Virulenz der C-Formen, die bisher nur als unbedeutend ermittelt wurde, sind noch nicht abgeschlossen. — Für die Annahme eines Ultravirus lägen keine Anhaltspunkte vor.

Rodenkirchen (Duisburg).

McCoy, E., Infection by Bact. radicicola in relation to the microchemistry of the host's cell walls. (Proc. Roy. Soc. Lond. [B.] Vol. 110. 1932. p. 514—533, 1 pl.)

Infection of root hairs by B. radicicola is not a mere invasion of injured tissue. The presence of bacteria, even of foreign inoculation-groups, causes a significant increase in the number of bent hairs. A non-specific secretion, produced by the bacteria and separable from them by filtration, is capable of causing curling of the root-hair tip. The author, however, obtained no evidence in support of the view that the bacteria can attack the known constituents of the root-hair walls.

In the tissue of the nodule there are numerous pits perforating the secondary layers of the cell walls but the middle lamellae are continuous. The infection thread is surrounded by a sheath of cellulose and hemicellulose. The sheath does not cross the middle lamella and is probably a deposit of the individual plant cell. Cunningham (Edinburgh).

Steck, W., Über die Eutercorynebakterien und ihre Beziehungen zu den Euterstreptokokken. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 227—235.)

Die Eutercorynebakterien stellen eine charakteristische Gruppe von Euterbakterien dar, die zu den häufigsten Bewohnern des normalen Kuheuters gehören. Sie leben allein im Euter oder zusammen mit anderen Bakterien, wobei sie durch die von virulenten Bakterien (Streptokokken) ausgelöste Reaktion der Drüse zurückgedämmt werden und nach deren Verschwinden wiederum stärker in Erscheinung treten. Ihr Verhalten im Euter: Verglichen mit den Eutermikrokokken und Euterstreptokokken ist die zellige Reaktion in Eutercorynebakterien-Vierteln äußerst gering. Auch die chemischen Veränderungen stehen denen nach, die durch andere Euterbewohner ausgelöst werden. — Die kulturellen Eigenschaften der Keime: Gramfestigkeit, in älteren Kulturen Hervortreten der Keulen und verzweigten Formen, langsames Wachstum, selbst auf Serumagar. Charakteristisch ist das Verhalten gegenüber dem Luftsauerstoff: Das optimale Wachstum erfolgt in der Regel bei der ersten Kulturgeneration — wie es ähnlich beim Bact. abortus Bang der Fall ist — einige Millimeter bis ca. 1 cm tief unter

der Agaroberfläche. Es kommen aber sogar, wenn auch selten, anaerobe Stämme vor. Gelatine wird nicht verflüssigt. In Bouillon Wachstum in Form von Granula, die sich am Boden sammeln und die Flüssigkeit klar lassen. Kohlehydrate werden kaum angegriffen. Dagegen wird Fett gespalten, so daß Ranzigkeit der Milch oder des Rahmes unter Umständen durch die Eutercorynebakterien verursacht sein kann.

Rodenkirchen (Duisburg).

Idzerda, J., und van Everdingen, W. A. G., Zur Kenntnis der Änderungen, die in Blutnährböden durch Streptokokken, Typus α (Brown) verursacht werden. I. Mitteilung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 123. 1932. S. 401—414.)

Während nach der bisherigen Anschauung das „Zonenphänomen" von α-Streptokokken in Blutplatten bei abwechselndem Einfluß von Brutschranktemperatur und Kälte entsteht und dabei die Anzahl der Zonen mit der Anzahl der verschiedenen Temperaturperioden übereinstimmt, braucht nach den Befunden der Verff. diese Parallelität prinzipiell nicht zu bestehen. Das Ausschlaggebende beim Auftreten des Zonenphänomens ist die Wasserstoffionenkonzentration der Blutplatte. Bei geringeren ph-Werten können z. B. Tiefenkolonien den β-Typ (Strept. haemol.) vortäuschen. — Die stereoskopische Beobachtung der Kolonien hat ergeben, daß das gewöhnlich als zweidimensionale Erscheinung beschriebene Zonenphänomen in Wirklichkeit dreidimensional ist und in einer mehr oder weniger sprunghaft, überall in gleicher Entfernung vom Zentrum der Kolonie in gleicher Intensität auftretenden größeren oder kleineren Reduktion der Erythrozytenzahl besteht. Durchschnittspräparate haben diese Ergebnisse bestätigt. — Es konnte ein erheblicher Unterschied zwischen den Erythrozyten in den grün verfärbten Zonen in Kolonienähe und den weiter abliegenden festgestellt werden. Jene sind absolut resistent gegen verschiedene Einflüsse (Saponin, Hypotonie, NaCl in Substanz), die anderen weniger resistent als die Erythrozyten in den unveränderten Plattenteilen. Wie die Erythrozyten in den äußeren Plattenzonen, verhalten sich in gewisser Beziehung auch die steril bleibenden Erythrozyten in flüssigen Blutnährböden mit α-Streptokokken.

II. Über die Wirkung von sterilen Agarfiltraten auf kleine Erythrozytenmengen. (Ebenda, Bd. 124. 1932. S. 78—89.)

Die in der I. Mitteilung beschriebenen Veränderungen der Blutplatte in der Nähe von Tiefenkolonien konnten auf einen durch die Streptokokken ausgeschiedenen Stoff zurückgeführt werden.

III. Über die Wirkung von sterilen Bouillonfiltraten und von geringen H_2O_2-Konzentrationen auf kleine Erythrozytenmengen. (Ebenda. Bd. 124. 1932. S. 185—196.)

Die Untersuchungsergebnisse berechtigen zu dem Schluß, daß von den Kolonien in der Brownschen Blutplatte sowie von den wachsenden Streptokokken in Fleischbouillon ein Stoff ausgeschieden wird, der auf rote Blutkörperchen denselben Einfluß ausübt wie H_2O_2 im gleichen Milieu. — Das dreidimensionale Phänomen der Zonenformation in den Blutagarplatten entsteht durch das wechselnde Verhältnis der Konzentration des ausgeschiedenen Stoffes : kleinen Erythrozytenmengen, wozu als weitere Einflüsse die Art des Stammes und des Blutes, die Temperatur, die Zeit und das p_H des

Milieus kommen. Das Zonenphänomen läßt sich experimentell durch Einwirkung von H_2O_2 in Blutplatten nachahmen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Schieblich, M., Über einen beweglichen Streptokokkus, Streptococcus herbarum n. sp., und zwei vom grünen pflanzlichen Material isolierte sporenbildende Stäbchen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Orig. Bd. 124. 1932. S. 269—276.)

Bei dem beweglichen Streptokokkus handelt es sich um einen dem Strept. acidi lactici nahestehenden Keim. Die verhältnismäßig langen, im allgemeinen geschlängelt verlaufenden Geißeln sitzen in der Regel endständig oder nahezu endständig, jedoch nicht immer am freien Ende, sondern bisweilen auch an der Berührungsstelle zweier Kokken. Gewöhnlich findet sich sowohl an den Einzelkokken als auch an den Diplokokken und Ketten nur eine Geißel; zwei Geißeln sind selten. Einige wichtige Merkmale sind: fakultativ anaerobes Wachstum, unter 10° kein Wachstum. In Traubenzuckerbouillon anfangs kräftige Trübung, später Aufklären und Bildung reichlichen Bodensatzes, der in alten Kulturen zähe wird und sich beim Schütteln spiralig aufwirbelt. Milch wird nach 24—48 Std. gleichmäßig fest koaguliert. In Lackmusmilch Veränderung wie durch Strept. acidi lactici. Säurebildung aus Traubenzucker, Milchzucker, Maltose, Saccharose, Arabinose und Salizin, aus Mannit nur zum Teil. Raffinose wird nicht angegriffen. In der Brownschen Blutagarplatte α-Hämolyse. Apathogenität für weiße Mäuse. — Der Bac. modestus n. sp. stellt ein 1,5—5 μ langes und 1—1,2 μ breites, grampositives Stäbchen dar. Die Beweglichkeit, die lebhaft wackelnd, aber immer nur bei wenig Exemplaren zu beobachten ist, wird durch 2—4 peritrich angeordnete lange Geißeln ermöglicht. Keine Gelatineverflüssigung und keine sichtbare Veränderung der Milch. In Traubenzuckerbouillon kräftige Säurebildung. Kolonien auf Gelatine klein, typhus-coliartig, auf Agar klein, im Zentrum nabelförmig gewölbt oder grubig vertieft, im Innern dichtfilzig. In Bouillon zunächst geringe Trübung, später Aufklaren unter Bildung eines sich beim Aufschütteln spiralig-fadenförmig aufwirbelnden und leicht vollkommen verteilbaren Bodensatzes; keine Häutchenbildung. Auf Kartoffel zarter, grauweißer Belag. — Der Bac. rarerepertus n. sp. steht dem Bac. modestus ziemlich nahe. Er bildet noch kleinere Kolonien (auf Gelatine beträgt ihr Durchmesser höchstens 2 mm) und aus Traubenzucker weder Gas noch Säure.

Rodenkirchen (Duisburg).

Hewitt, L. F., Effect of lysozyme on the oxidation-reduction potentials of M. lysodeikticus cultures. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1452—1457.)

M. lysodeikticus ist ein typischer Katalasebildner und liefert infolgedessen kein Peroxyd. Das Wachstum ist ebenso wie der Potentialabfall in gelüfteten Kulturen stärker als in ruhenden, aeroben Kulturen. Wie andere aerobe Organismen enthält M. lysodeikticus Cytochrom, welches anscheinend anaerobe Oxydations-Reduktions-Reaktionen nicht katalysiert. Fügt man zu den Kulturen ein Lysozym (Eiereiweiß in Kochsalzlösung oder menschliche Tränen), so fällt das Potential sofort stark ab, um unmittelbar darauf wieder anzusteigen, bevor die Lösung klar wird, die Lysis also vollständig ist. Mit zunehmendem Alter der Kultur wird dieser Potentialabfall oder -anstieg immer geringer. Der plötzliche Potentialabfall

beim Hinzufügen des Lysozyms zur Kultur wird vom Verf. mit der Zunahme der Enzymaktivität während der Bakterienauflösung erklärt.
R. Koch (Berlin).

Wynne, A. M., Inhibition of the acetone-butyl alcohol fermentation by acids. (Journ. Bact. Vol. 22. 1931. p. 209—237.)

Es wird untersucht, wieweit 30 anorganische und organische Säuren die Vergärung von Maismaische durch Clostridium acetobutylicum (Weizmann) hemmen. Versuchskolben wurden gefüllt mit 6 g Maische in 3proz. Konzentration, angesäuert mit verschiedenen Mengen der zu untersuchenden Säuren und die Azidität bestimmt. Nach einer Inkubationsdauer von 6 Tagen bei 37—38° wurde durch Bestimmen des Gewichtsverlustes die Gärungshemmung festgestellt sowie die Anfangskonzentrationen der Säuren, die die Gärung verhindern, in Tabellen festgelegt. — Eine vollständige Hemmung wurde gefunden bei einem Anfangs-ph von 3,90—3,65 folgender Säuren: Hydrochlorsäure, Salpeters., Schwefels., Orthophosphors., Bernsteins., Malons., Maleins., Lävulins., Krotons., Glykolls., β-Hydrobutters., Ameisens., Essigs., Propions., Butters. und Isobutters. — Die toxischen Eigenschaften dieser Säuren stehen in einem Zusammenhang mit einem „kritischen" CH_+ des Zellinnern. Die Art und Weise, in der die Säuren das physiologische Verhalten des untersuchten Bakteriums beeinflussen, wird diskutiert.
Thies (Hannover).

Hewitt, L. F., Effect of bacteriophage on oxidation-reduction potentials of B. dysenteriae (Shiga) cultures. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1447—1451.)

Die Oxydations-Reduktionspotential-Zeitkurven von peroxydbildenden Bakterien sind ganz verschieden von denjenigen der katalaseführenden Organismen. Fügt man Katalase zu den Kulturen der Peroxydbildner, so werden die Oxydations-Reduktionspotentialkurven denjenigen der katalasebildenden Organismen ähnlich. Bact. dysenteriae (Shiga) enthält weder Katalase, noch bildet es Peroxyd und besitzt ein relativ schwaches Reduktionsvermögen. Dennoch entspricht sein Verhalten demjenigen der Katalasebildner. Der Bakteriophage scheint keine Wirkung auf das Oxydations-Reduktionspotential auszuüben. Er wirkt nur indirekt durch Hemmung des Wachstums und der Stoffwechselaktivität der Bakterien.
R. Koch (Berlin).

Etinger-Tulczynska, R., Über Bakterienantagonismus. (Ztschr. f. Infektionskrankh. Bd. 113. 1932. S. 762—780.)

Die stärkste Hemmungswirkung wurde zwischen nahe verwandten Bakterienarten und zwischen verschiedenen Typen derselben Art beobachtet. Da in diesen Fällen eine gegenseitige Beeinflussung durch Stoffwechselprodukte ausgeschlossen war, auch auf Enzymwirkung- wie aus Reagenzglasversuchen hervorging, die übrigens ganz analog den Tierversuchen ausfielen — und auf schnellere Vermehrung, auf verschieden großen Nährstoffbedarf oder verschieden starke Virulenz der einen Art nichts deutete, auch nicht etwa immer nur ein und dieselbe Art unterdrückt wurde, kann die Hemmungswirkung nur durch die Einsaatmengen der Keime bedingt sein. Es wird stets die Art bzw. der Typ hemmen, der in einer gewissen Überzahl vorhanden und in Vermehrung begriffen ist. Daß im Tier mitunter ein Typ durch den anderen vollständig unterdrückt wird, wenn das Tier mit gleichen

Mengen von beiden Typen gleichzeitig infiziert wird, wird damit erklärt, daß infolge der wechselnden, natürlichen Resistenzkräfte des Tieres der eine oder andere Typ sich zuerst zu entwickeln beginnt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Kuhn, Ph., und **Sternberg, K.,** Weitere Befunde bei Bakterien und Pettenkoferien. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 205—208.)

In Pettenkoferienkulturen und in Kulturen, in denen sich das d'Herellesche Phänomen abspielt, wurden Fäden beobachtet, die für leblose Gebilde angesprochen werden und besonders aus dem Schleim von Pettenkoferien bestehen sollen. — Mit Hilfe der Kapillarüberwanderung nach Friedberger gelang es, aus einem stark degenerierten, scheinbar unbeweglichen Pyocyaneus-Stamm typische, bewegliche Bakterien zu gewinnen. Rodenkirchen (Duisburg).

Prell, H., Die Individualitätsverhältnisse bei den Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 208—216.)

Bei den Bakterien kann man Biologische Einheiten erster, zweiter und dritter Ordnung unterscheiden. Unter Biologischer Einheit erster Ordnung vom Range einer Zelle ist das einzelne Bakterium, gleichgültig welcher Gattung, zu verstehen. Als Biologische Einheit zweiter Ordnung vom Range einer Person ist die einfache Bakteriengemeinschaft anzusehen, gleichgültig, ob die Einzelzellen in mäßiger Zahl (Bakterienketten usw.) oder in großer Anzahl (Bakterienkolonien) zu einem Ganzen zusammengefaßt sind. Als Biologische Einheit dritter Ordnung vom Range eines Kormus oder Stockes ist die zusammengesetzte Bakteriengemeinschaft anzusehen, wie sie in der Tochterkolonien bildenden Bakterienkolonie zum Ausdruck kommt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Bachmann, W., Über Fernwirkung einer Hefekultur auf Mikroorganismen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 113—122.)

Bei geringer Entfernung (0,6 cm) zwischen Hefekultur und Bakterien-Impfstellen (geprüft wurden Influenza-, Coli-, Dysenterie-Bazillen, Pneumokokken, Staphylokokken und Streptokokken) kommt die Fernwirkung in deutlicher Entwicklungshemmung oder gar in Abtötung von Bakterien zum Ausdruck. Die entstehenden Kolonien zeigten einen auffallend stark granulierten Rand. Blieben aber die Impfstellen innerhalb 16stündiger Bebrütung makroskopisch steril, so bot sich mikroskopisch ein Bild scholligen Zerfalls. Die Entwicklung normal geformter Kolonien blieb auch in der Folge an solchen Stellen aus. Bei Influenzabazillen als Detektor ergaben mikroskopische Ausstriche von nachträglich noch erschienenen Kolonien eine auffallend große Anzahl von fädigen Involutionsformen. Verursacht wird die entwicklungshemmende Fernwirkung der Hefe sehr wahrscheinlich durch hohe CO_2-Produktion zusammen mit eintretendem Sauerstoffmangel, selbst bei kontinuierlicher Durchlüftung der Glasglocke, unter der solche Versuche ablaufen. Der physikalische Nachweis von möglicherweise an diesem Effekt mitbeteiligten Strahlungsvorgängen ist vorläufig noch nicht gelungen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Luntz, A., Untersuchungen über die Phototaxis. II. Mitt. Lichtintensität und Schwimmgeschwindigkeit bei

Eudorina elegans. (Ztschr. vergl. Physiologie. Bd. 15. 1931. S. 652—678.)

Mit steigender Lichtintensität wird die Geschwindigkeit des Schwimmens von Eudorina nach einer bestimmten Formel gesteigert. Es kommt dabei aber zugleich auf die durch eine Vorbelichtung erzeugte Gewöhnung der Eudorina an Lichtreize an. Bei Gewöhnung an starke und mittelstarke Intensitäten wird durch die Intensität der Vorbelichtung eine untere Grenze der Geschwindigkeit festgelegt, die bei keiner noch so schwachen Intensität des Versuchslichtes unterschritten wird. Die absolute Lichtintensität, die notwendig ist, um eine bestimmte Geschwindigkeit des Schwimmens zu erzeugen, ist nach der angewendeten Wellenlänge verschieden. Bei Anwendung sehr starker Lichtreize wird die Schwimmgeschwindigkeit herabgesetzt. Die betreffende Reaktion wird noch nach verschiedenen anderen Richtungen hin bestimmt. K. Friederichs.

Luntz, A., Untersuchungen über die Phototaxis. III. Mitt. Die Umkehr der Reaktionsrichtung bei starken Lichtintensitäten und ihre Bedeutung für eine allgemeine Theorie der photischen Reizwirkung. (Ztschr. vergl. Physiologie. Bd. 16. 1932. S. 204—217.)

Es ist seit langem bekannt, daß die Richtung der phototaktischen Reaktion bei Volvox von der Intensität des Lichtreizes abhängt. Die vorliegenden Untersuchungen an Volvox, Chlorogonium und Eudorina ergaben, daß ein Lichtoptimum besteht, oberhalb dessen die Phototaxis negativ wird. Verf. stellt die Hypothese auf, daß der Lichtreiz zwei in ihrer Endwirkung einander entgegengesetzte Reaktionen auslöst, die in ihrer Stärke durch die Intensität des Lichtes verschieden beeinflußt werden. Bei den beobachteten Vorgängen würde es sich um das Überwiegen der einen Reaktion über die andere handeln und das Optimum würde einen Gleichgewichtszustand beider Reaktionen darstellen.

K. Friederichs.

Ulbrich, E., Über den Formenkreis von Phallus impudicus. (Festschrift zur Feier des 50jährigen Bestehens der Dtsch. Bot. Ges.; Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 50a. 1932. S. 276—326.)

Die Untersuchung der Formenkreise von Phallus impudicus, die durch neue Funde von Ph. iosmos Berk. von der pommerschen Ostseeküste und von Ph. imperialis aus Rheinhessen angeregt war, ergab, daß dieser Pilz über die ganze nördliche Halbkugel, am meisten in den gemäßigten Ländern verbreitet ist, dagegen die kalten und die tropischen Gebiete meidet. Die Verbreitung ist aber nicht lückenlos, sondern zeigt drei Teilareale: 1. das europäische, 2. das ostasiatische, 3. das nordamerikanische. Im europäischen Teilareal wird die größte Mannigfaltigkeit der Art beobachtet; es finden sich ökologisch-pflanzengeographische Formenkreise: var. iosmos Rea als atlantischer Formenkreis an den Küsten der Nord- und Ostsee; var. imperialis Ulbrich als pannonischer Formenkreis. Das ostasiatische Areal umfaßt bisher nur Japan; doch dürfte nach Verf.s Ansicht die Art auch in den chinesischen Himalayaprovinzen und Korea zu finden sein. Das nordamerikanische Areal, dessen Formen als var. americanus Ulbrich zusammengefaßt werden, erstreckt sich von der atlantischen Küste bis zu den Rocky Mts., nördlich bis SO-Kanada, südlich bis S-Carolina. — In einem Abschnitt über die Nomenklatur wird die Wieder-

herstellung bzw. Erhaltung der Gattung Phallus L. nach den Regeln der Nomenklatur gefordert. Ferner werden die bei Ph. impudicus bisher beobachteten Bildungsabweichungen beschrieben.

Thies (Hannover).

Arthur, I. C., Terminologie der Uredinales. (Festschrift zur Feier des 50jährigen Bestehens der Dtsch. Bot. Ges.; Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 50a. 1932. S. 24—27.)

Bei der Terminologie der Roste lag früher das Hauptgewicht auf der Spore und nicht auf dem Entwicklungsstadium; denn dieses wurde nicht benannt, sondern nur die Sporen und die Fruchtkörper. Nach de Bary gab es fünf Arten von Sporen eines ganzen Entwicklungszyklus; nach neueren Untersuchungen repräsentieren aber die fünf Sporensorten die fünf Entwicklungsabschnitte, jeden mit charakteristischen Fruktifikationsstrukturen. Namen für diese fünf grundlegenden Strukturen und ihre Sporen können nach Verf. die erforderliche Terminologie abgeben. Die vorgeschlagenen Termini lauten folgendermaßen:

Grundtermini	Sporentermini	Ableitung
Pycnium	Pycniospore	πυκνός dicht
Aecium	Aeciospore	αικία Wunde
Uredium	Urediospore	uro (εὔω) brennen
Telium	Teliospore	τελέος vollständig
Basidium	Basidiospore	βάσις Basis

Für den dritten Terminus Uredinium wird das kürzer und besser klingende Uredium vorgeschlagen. Thies (Hannover).

Raistrick, H., Studies in the biochemistry of microorganisms. In collaboration with **Birkinshaw, I. H., Charles, J. H. V., Clutterbuck, P. W., Coyne, F. P., Hetherington, A. C., Lilly, C. H., Rintoul, M. L., Rintoul, W., Robinson, R., Stoyle, J. A. R., Thom, C., and Young, W.** (Philosoph. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B. Vol. 220. 1931.)

—, and **Rintoul, W.,** I. Introductory. (Philosoph. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B. Vol. 220. 1931. p. 2—10.)

In einer historischen Übersicht werden die von Schimmelpilzen gebildeten Abbauprodukte (Säuren sowie andere Produkte) zusammengestellt. Die Hauptresultate sämtlicher Untersuchungen werden kurz, wie folgt, zusammengefaßt: Die Kohlenstoffbilanz kann zur Klassifizierung von verschiedenen Spezies in bestimmten Familien, z. B. der Aspergillaceen, dienen. Beim Abbau von Glukose durch Pilze scheint als erste Stufe eine Cannizzaro-Reaktion stattzufinden, wobei aus 2 Glukose, 1 Mannit und 1 Glukonsäure entstehen, die dann einzeln, oder beide zusammen abgebaut werden. Ferner wurden mehrere für bestimmte Pilze spezifische Verbindungen entdeckt und beschrieben (Citromycetin, Luteinsäure, Citrinin u. a.). Thies (Hannover).

Birkinshaw, J. H., Charles, J. H. V., Raistrick, H., and **Stoyle, J. A. R.,** III. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by species of Aspergillus. (Philosoph. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B. Vol. 220. 1931. p. 27—44.)

Für eine sehr große Anzahl von Aspergillus-Spezies, geordnet

in einzelne Gruppen, wird die C-Bilanz aufgestellt; dieselbe enthält: C in der Ausgangslösung, C in H_2SO_4 absorbiert (Alkohole, Aldehyde usw.), C in CO_2, C im Pilzmyzel, C in der Endlösung; dies letztere wurde bestimmt als unverbrauchte Glukose, gelöste CO_2, flüchtige und nichtflüchtige Säuren, flüchtige und nichtflüchtige neutrale Verbindungen. Jede Gruppe von Asp.-Spezies hat ihre eigenen besonderen biochemischen Merkmale, während die verschiedenen Spezies in jeder Gruppe ähnliche Merkmale haben. Die Gruppierung der Arten stimmt gut überein mit der Gruppierung, die Thom und Church auf Grund morphologischer Merkmale geschaffen haben. Thies (Hannover).

Birkinshaw, J. H., Charles, J. H. V., Hetherington, A. Cl., and Raistrick, H., with an appendix by **Thom, Ch.,** IV. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by species of Penicillium (including Citromyces). (Philosoph. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B. Vol. 220. 1931. p. 55—93.)

In diesem Kapitel wird die C-Bilanz für eine große Anzahl Penicillium-Spezies mitgeteilt, und zwar sind diese nach der morphologischen Gruppeneinteilung von Thom („The Penicillia" 1929) geordnet. Viele von diesen Gruppen haben ihre eigenen, besonderen biochemischen Merkmale, aber dennoch ist die Übereinstimmung zwischen der morphologischen und der biochemischen Klassifizierung nicht so gut wie bei den Aspergillus-Gruppen. Im Anhang finden wir die geschichtlichen Merkmale und die Diagnosen der Spezies von Thom. Thies (Hannover).

Birkinshaw, J. H., Charles, J. H. V., Raistrick, H., and Stoyle, J. A. R., V. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by species of Fusarium. (Philosoph. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B. Vol. 220. 1931. p. 93—98.)

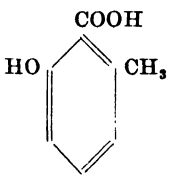
Die C-Bilanz von 23 Spezies von Fusarium wird in derselben Weise ausgeführt und in zwei Tabellen zusammengestellt, wovon aber nur eine rohe biochemische Klassifizierung gemacht werden kann. Das biochemische Hauptmerkmal der Fusarium-Spezies ist wie bei den Hefen die Bildung von Alkohol aus Glukose. Da viele Fusarium-Pilze auf pflanzlichen Abfallprodukten gut zu wachsen vermögen, besteht die Möglichkeit, auf diese Weise aus pflanzlichen Abfallprodukten Alkohol zu gewinnen. Thies (Hannover).

Birkinshaw, J. H., Charles, J. H. V., Hetherington, A. Cl., and Raistrick, H., VI. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by miscellaneous species of fungi. (Philosoph. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B. Vol. 220. 1931. p. 99—125.)

Es werden die C-Bilanzen für eine große Anzahl Pilze umfassend: Ascomycetes mit den Genera Sordaria, Chaetomium, Sclerotinia, Basidiomycetes mit dem Genus Ustilago, und Fungi imperfecti mit den Familien Moniliaceae (vier Genera), Dematiaceae (7 Genera), Stilbaceae (1 Genus) und Tuberculariaceae (2 Genera), aufgestellt. Thies (Hannover).

Raistrick, H., and Anslow, W. K., Studies in the biochemistry of microorganisms. XIX. 6-Hydroxy-2-methylbenzoic acid, a product of the metabolism of glucose by Penicillium griseo-fulvum Dierckx. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 39—44.)

Pen. griseo-fulvum bildet in Nährlösung mit Glukose als einziger C-Quelle ein mit Ferrichlorid sich purpurrot färbendes Stoffwechselprodukt, von der empirischen Zusammensetzung $C_8H_8O_3$, 6-Hydroxy-2-methylbenzoesäure. Die Eigenschaften, Analyse und Derivate dieses Körpers werden beschrieben. Als Konstitutionsformel wurde folgende ermittelt und durch Synthese bewiesen.



Thies (Hannover).

Coyne, F. P., and Raistrick, H., Studies in the biochemistry of micro-organisms. XX. On the production of mannitol from hexoses and pentoses by a white species of Aspergillus. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1513—1521.)

Verff. studierten den Stoffwechsel einer weißen Aspergillus-Spezies auf synthetischen Nährböden mit dosierter Luftzufuhr (300 ccm täglich pro Flasche). Aus Glukose, Mannose, Galaktose, Xylose und Arabinose bildete dieser Pilz beträchtliche Mengen Mannit (15—35% des verbrauchten Zuckers). Aus Lävulose entstand kein Mannit. Diese Ergebnisse stehen im direkten Gegensatz zu dem, was man von mannitbildenden Bakterien weiß. R. Koch (Berlin).

Birkinshaw, J. H., Charles, J. H. V., and Clutterbuck, P. W., Studies in the biochemistry of micro-organisms. XXI. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from Glucose by species of bacteria. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1522—1539.)

Entsprechend den biochemischen Untersuchungen über Schimmelpilze werden in dieser Arbeit die Stoffwechselprodukte von Bakterien untersucht. Das früher gebrauchte Czapek-Dox-Nährmedium wurde für die Kultivierung von Bakterien dadurch abgeändert, daß das Natriumnitrat durch Natriumammoniumphosphat ersetzt wurde; die jetzt erzielten Ausbeuten wurden noch durch einen Zusatz von 0,2% Pepton erheblich gesteigert. Als bester Puffer erwies sich Kalziumkarbonat. — Weiter werden Methoden beschrieben zur Bestimmung von 2 : 3-Butylenglykol und Milchsäure, die von zahlreichen Bakterien gebildet wurden; ersteres wird nach folgender Umsetzung bestimmt:

$$CH_3 . CHOH . CHOH . CH_3 + HJO_4 \rightarrow 2\ CH_3CHO + HJO_3 + H_2O,$$

für letzteres wird eine Methode ausgearbeitet, die auf derjenigen von Fürth und Charnass (1910) basiert. — Es wurde das Wachstum von 50 Bak-

terien-Spezies auf dem beschriebenen Nährboden untersucht, hiervon wurden 20 ausgewählt, für die die C-Bilanz bei 28° und 34° in der für die Pilze beschriebenen Weise aufgestellt wurde; hierbei wurde gefunden, daß die Hauptstoffwechselprodukte flüchtige Säuren, flüchtige neutrale Verbindungen, Milchsäure und 2 : 3 - Butylenglykol sind. Besonderes Interesse verdient B. asiaticus-mobilis, der eine Ausbeute von 30% Butylenglykol ergab. Untersucht wurden u. a.: Leuconostoc, B. carotovorus, B. proteus-vulgaris, B. acidi-lactici, B. coli-Gruppe, Aerobacter-Gruppe, B. alkalescens, B. ureae, B. albolactis und Clostridium. Thies (Hannover).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Wallis, G. C., Eckles, C. H., Petersen, W. E., and Macy, H., The influence of nonstripping on the bacterial count of machine-drawn milk. [Der Einfluß des Nichtnachmelkens auf den Keimgehalt von Maschinen ermolkener Milch.] (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. p. 163—170.)

Die Kühe wurden alternierend 2 Tage nachgemolken und 2 Tage nicht nachgemolken und der Keimgehalt der im übrigen aus den einzelnen Vierteln aseptisch entnommenen Milch bestimmt. In der ersten Versuchsreihe wurde die Mittelmilch untersucht, in der zweiten Versuchsreihe das Gesamtgemelk. Es zeigte sich, daß das Unterlassen des Nachmelkens den Keimgehalt der in den folgenden Tagen ermolkenen Milch nicht ungünstig beeinflußte. Die einzelnen Viertel desselben Euters erwiesen sich bezüglich des Bakteriengehaltes voneinander völlig unabhängig. Auch konnte keine Korrelation zwischen der Gründlichkeit des Maschinenmelkens und dem normalen Keimgehalt der aseptisch ermolkenen Milch gefunden werden. Kühe können sich schlecht ausmelken lassen und dennoch einen niedrigen Keimgehalt in der Milch aufweisen, ebenso umgekehrt. Des weiteren hatte auch das Verschließen der Zitzenöffnungen während der Melkpausen mittels Kollodium keinen verbessernden Einfluß auf den Gesamt-Keimgehalt.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Kelly, C. D., The rate of chemical change in milk brought about by certain lactic acid streptococci. [Der Verlauf der chemischen Veränderung in Milch durch gewisse Milchsäurestreptokokken.] (N. Y. Sta. Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. No. 184. 1931.)

Wenn Streptococcus lactis und Strept. cremoris in gewöhnlicher oder in mit Kalziumkarbonat versetzter Milch längere Zeit kultiviert werden, zeigen sich Unterschiede in den proteolytischen Eigenschaften. In der Karbonatmilch verstärkt sich die hydrolytische Aktivität hinsichtlich Eiweiß sowohl wie Kohlehydraten. Die beiden Organismen verhalten sich, was den essigsäure- und trichloressigsäurelöslichen Teil des Stickstoffs betrifft, gleich, betreffs des phosphorwolframsäurelöslichen Anteils ergibt jedoch der Str. cremoris höhere Werte als der Str. lactis. — Beim Vergleich der beiden Organismen mit einem Handels-Säurewecker ging dieser hinsichtlich Amino-Stickstoffs (Van Slyke-Methode) mit dem Str. cremoris parallel, indem der Str. lactis nicht so hohe Werte erreichte als der Str. cremoris und der Säurewecker. — Die Wasserstoffionenkonzentration der Karbonatmilch (ph 6,43)

nahm während der ersten 2 Tage nach Beimpfung rapide ab, um dann ziemlich stationär zu bleiben für 18 Tage. Der niedrigste Wert wurde vor Schütteln mit ph 4,78, nach Schütteln mit ph 5,2 gefunden.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Hiscox, E. R., and Christian, M. I., A contribution to the bacteriology of commercial sterilised milk. Part I. General. (Journ. Dairy Res. Vol. 3. 1931. p. 106—112.)

Samples of commercial "sterilised" milk showed three types of spoilage:

(1) Coagulation and digestion of the curd brought about by sporulating rods of the types B. mesentericus, B. cereus and B. mycoides.

(2) Acid curdling with subsequent contraction and slight digestion of the curd produced by an unidentified rod-shaped organism.

(3) Development of a "coconut" or "carbolic" taint with no visible change in the milk. The causal organisms are described in Part II.

Cunningham (Edinburgh).

Christian, M. I., A contribution to the bacteriology of commercial sterilised milk. Part II. The "coconut" or "carbolic" taint. (Journ. Dairy Res. Vol. 3. 1931. p. 113—129.)

Milk which shows the taint referred to has an acid smell reminiscent of the milk of coconuts and a strong aftertaste generally described as "carbolic". The pH varies from 5.5 to 6.0 but the acidity is insufficient to curdle the milk which, however, readily clots on boiling. The causal organism has been isolated and described and the taint reproduced by inoculation of the organism into milk.

When cultivated by laboratory methods the sporulating form of the causal organism is rapidly replaced by a vegetative race but sporulation can be maintained indefinitely if sporing cultures are heated at 100° C for 30 mins. at the time of inoculation. It is believed that in unheated cultures there is, associated with the growth of the vegetative form, a thermolabile substance which is inhibitory to the germination of the spores. The optimum temperature for spore formation is 22° C and for production of the taint about 37° C. Cunningham (Edinburgh).

Hiscox, E. R., and Christian, M. I. A contribution to the bacteriology of commercial sterilised milk. Part III. The basis of control. (Journ. Dairy Res. Vol. 3. 1931. p. 130—132.)

Methods for controlling the spoilage of commereial "sterilised" milk are discussed. It is considered that the empty bottles returned to the factory constitute the most serious source of contamination and it is, therefore, recommended that, before the bottles are filled, they should he steamed for three hours. Other precautions suggested include greater care in the handling of the milk, efficient sealing of the bottles and storage at low temperatures. Cunningham (Edinburgh).

Moir, G. M., The effect of heat upon the rennin coagulation. (Journ. Dairy Res. Vol. 3. 1931. p. 80—85.)

The whey obtained by the action of rennin on acidified milk contained more soluble protein than that from unacidified milk. The increased time required for rennin coagulation as a result of pasteurisation was propor-

tionately greater in the acidified than in the unacidified portions. The differences in coagulation time were found to be correlated with decreases in the amount of soluble protein found in the whey. It is suggested that decreased coagulability of heated milk is partly due to flocculation of soluble milk protein upon the casein particles. Cunningham (Edinburgh).

Richter, K., Untersuchungen über die Entwicklung der Bakterienflora in Milch und ihre Abhängigkeit von der Pufferung. I. Abhängigkeit der Entwicklung von säurebildenden bzw. nichtsäurebildenden Bakterien von der Pufferung der Milch und die Beeinflussung der Pufferung durch Mineralsalzzufütterung. Hildesheim (Molkereizeitungs-Druckerei) 1931. 86 S., 6 Tab., 21 Abb.

Anlaß zu den Untersuchungen gab das Auftreten des Fehlers „lehmigadstringierend" in Milch einer Stadtmolkerei. Er war zwar auf die Tätigkeit fettspaltender Bakterien zurückzuführen, konnte jedoch in schweren Fällen durch Zugabe von Säurewecker bis zu 10% nicht sicher verhütet werden. Die Milchsäurebakterien wurden nämlich von den Fettspaltern unterdrückt, was zur Annahme einer besonderen „Disposition" der Milch führte. Es wurde festgestellt, daß der Quotient (nicht „Faktor", wie Verf. sagt) Kalk : Phosphor (CaO : anorg. P_2O_5) in den meisten Fällen unter 0,93 lag, während er in normaler Milch Werte von über 0,99 aufwies. Im gleichen Maße wichen die Pufferungskurven voneinander ab. Es gelang durch Zusatz von tertiärem Natriumphosphat und Kalziumchlorid, die Überpufferung im Gebiete des ersten Säurezusatzes bei der Elektrotitration ohne Verschiebung der Ausgangs-ph zu beseitigen. Nach derart korrigierter Milchpufferung kamen die Milchsäurebakterien zu normalem Wachstum. Durch Zufütterung von Schlemmkreide konnte der Quotient CaO : anorg. P_2O_5 im Sinne einer Erhöhung des Kalkgehaltes bei gleichzeitiger Verringerung des Gehaltes an anorganisch gebundener Phosphorsäure in der Milch beeinflußt werden. Die Zufütterung von Kalziumchlorid hatte eine geringere Wirkung, während phosphorsaurer Kalk den Phosphorsäuregehalt einseitig erhöhte. Verf. vermutet, daß auch bei der Entwicklung anderer Geschmacksfehler neben der Infektion auch der Pufferung eine hohe Bedeutung zukommt. (Inzwischen ist das Problem der schmirgeligen Milch auch von anderer Seite angegangen worden und scheint seine Lösung in der katalytischen Wirkung von Metallionen auf Oleinase gefunden zu haben. Der Ref.)

H. Mossel (Weihenstephan).

Falke, William, Zur hygienischen Untersuchung und Beurteilung der Marktmilch einer Großstadt Mitteldeutschlands. Inaug.-Diss. aus dem Vet.-Hyg. Inst. der Universität Leipzig 1931.

Die Prüfungen von 33 Marktmilch-Proben erstreckten sich auf: Temperatur, Geschmack, Geruch, Farbe, Konsistenz, Säuregrad (Soxhlet-Henkel und Alizarolprobe), Reduktaseprobe (Methylenblau, Janusgrün), Gärprobe, Katalaseprobe, Keimgehalt (Breed-Methode, Plattenmethode (Zusammensetzung des Agars ist nicht angegeben), Coli aerogenes- und Typhus Salmonella-Titer (Lact.-Br. Thymolblau-Trypaflavin-Agar nach Klimmer und Erythrosin-Lact.-Methylenblau-Brom-Kresolpurpur-Agar nach Salle), Kaseolytenzahl (Kalzium-Caseinat-Agar nach Klimmer), anaerobe Sporen-

bildner (nach Weinzirl), Streptococcus agalactiae (mikroskopisch und kulturell), Bang sche Abortus-Bakterien (kulturell und im Tierversuch), Tuberkelbakterien (kulturell und im Tierversuch), Zellgehalt (nach Trommsdorff), Schmutzprobe (nach Gerber), Nitratprobe (nach Klimmer), etwaige Erhitzung (nach Storch, Schardinger, Hock und in Einzelfällen Amylaseprobe), Trockensubstanz und Fettgehalt.

Zusammenfassend wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Milchtemperatur beim Einkauf der Proben	5—24° C
Säuregrad	6,0—8,6° S. H.
Keimzahl nach Breed: Gr.-Zählung	45 000—13,2 Mill.
Einzelzählung	590 000—66,9 „
Keimzahl nach dem Plattenverfahren	39 000—27,6 „
Coli-aerogenes-Bakt. auf Klimmer-Agar	0—668 000
Coli-aerogenes-Bakt. auf Salle-Agar	0—41 500
Caseolytenzahl	600—41 500

Anaerobe Sporenbildner: bis zu $^1/_{100}$ ccm positiv in der Weinzirl-Probe.
Streptococcus agalactiae: kultureller Nachweis in 9 Fällen von 33 positiv.
Bang sche Abortusbakterien . . . . in 13 Fällen von 33 positiv.
Tuberkelbakterien . . . . . in 10 Fällen von 33 positiv.

Fettgehalt	2,8—4,7%
Fettfreie Trockenmasse	7,6—9,5%

H. Mossel (Weihenstephan).

Mohr, W., und Müller, W., Der Verlauf der Säuerung in süß eingedickter Magermilch. I. Mitt. (Milchw. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 46—58.)

Süß eingedampfte Magermilch ließ sich mittels Säuerungskulturen (Rahm-Säuerungs-Kultur, Joghurt, Kefir, Schleimbildner, Emmentaler-Kultur) um so schwerer säuern, je weiter die Milch eingedickt war. Joghurt-, Kefir- und Emmentaler-Kultur vermochten die stärkste Säuerung hervorzubringen. Der Säuregrad der Joghurt-Kultur betrug im Vergleich zu uneingedickter Magermilch (74° SH) bei auf 1 : 33 eingedickter Magermilch (Trockenmasse: 27,9%) nur 40,9° SH. Mit gewöhnlichem Säurewecker wurden geringere Säuregrade erreicht. Z. B. säuerte uneingedickte Magermilch mit diesem bis zu 35° SH. (nach 50 Std.), während die auf 1 : 3,08 eingedickte Milchprobe nur 23,3° SH. erreichte (auf uneingedickte Milch umgerechnet). Schleimbildner eigneten sich trotz starker Säurebildung wegen Bildung eines widerlichen Geschmacks nicht. Die Versuche werden im Hinblick auf die Erzielung einer festeren Konsistenz durch längere Säuerungszeiten fortgesetzt.

H. Mossel (Weihenstephan).

Lembke, Prüfung des Astra-Platten-Momenterhitzers. (Milchw. Zeitg. Jahrg. 37. 1932. S. 637—641.)

Der zur bakteriologischen Prüfung verwendete Apparat bestand aus Wärmeaustauscher, Erhitzer und Heißhalter. Es wurde darauf geachtet, daß die Heißwassertemperatur stets 5° C über der Milcherhitzungs-Temperatur lag. Die Prüfungen erstreckten sich auf die absolute Keimverminderung und die Abtötung sog. resistenter Colistämme. Der verwendete Agar enthielt 1% Laktose, 1% Pepton und 0,5% Kochsalz; die Petri-Schalen wurden nur 2 Tage bei 30° bebrütet. Zur Beimpfung der Versuchsmilch (1 : 500) wurden Coli-Bakterien verwendet, die eine 25 Min. lange Erhitzung auf 63° C aushielten nach 30 Min. dauernder Einwirkung der gleichen Temperatur jedoch abgetötet wurden. Die Resistenz der Coli-Stämme wurde bei jedem Versuch erneut nachgeprüft. Die

Milchproben wurden am Eintritt, am Ende des Erhitzers und des Heißhalters entnommen. Für den Nachweis der Coli-Bakterien wurde Gentianaviol.-Pepton-Laktose-Agar als Schüttelkultur verwendet.

Resistente Stämme von Bact. coli waren oberhalb folgender Temperaturen nicht mehr nachweisbar:

Erhitzer allein: Höchstnachweistemperatur . .	72.5° C
Heißhalter, alte Form: „ . .	70,2° C
Heißhalter, neue Form: „ . .	68 ° C

Als Mindestarbeitstemperatur unter Berücksichtigung einer Sicherheitsspanne schlägt Verf. folgende Temperatur vor:

Erhitzer allein	75° C
Heißhalter, alte Form	75° C
Heißhalter, neue Form	70° C

Der gewählte Sicherheitszuschlag beträgt 2—3° C. (Im Interesse der Molkereipraxis wäre auch eine Prüfung auf Reinfektionsmöglichkeiten im Wärmeaustauscher bzw. am Auslauf aus dem Apparat sehr erwünscht gewesen. Der Ref.) H. Mossel (Weihenstephan).

Oldenburg, F., und **Habermann, H.,** Kochgeschmack der Butter. (Milchw. Zeitg. Jahrg. 37. Heft 18. 1932.)

Reiner Kochgeschmack infolge Erhitzung des Rahmes oder der zur Rahmsäuerungskultur verwendeten Milch ist in Butter nur von kurzer Dauer und verschwindet spätestens nach 4 Tagen. Der Kochgeschmack in Butter tritt in den ersten Tagen bei sehr starker Erhitzung des Rahmes bei hohen Temperaturen und bei Verwendung ungeeigneter und kochig schmeckender Rahmsäuerungs-Kultur auf. Erhitzung des Rahmes unter 100° C, mit nachfolgender schnellen Kühlung, Entlüftung und Säuerung mit einer aromatischen Kultur lassen keinen Kochgeschmack in Butter auftreten. Ein sehr brauchbarer Säurewecker wurde erzielt, wenn Magermilch ½ Std. auf 70° C erhitzt wurde. Es empfiehlt sich nicht, den Kochgeschmack in Butter durch Übersäuern des Rahmes vermeiden zu wollen, weil die Butter einen sauren, fehlerhaften Geschmack annimmt. H. Mossel (Weihenstephan).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Zielstorff, W., und **Keller, A.,** Vergleichende Untersuchungen zwischen Heißmist und Kaltmist. (Landw. Jahrb. Bd. 75. 1932. S. 449—465.)

Verff. berichten über Versuche mit heiß- und kaltvergorenem Stalldünger, die aber aus verschiedenen Gründen klare Schlußfolgerungen nicht zulassen. Im ersten Falle wurden Heißmist und Kaltmist in großen Tonnen der Rotte überlassen. Die von H. Krantz gegebenen Regeln konnten nicht genügend eingehalten werden. Ein Düngungsversuch zu Kartoffeln mißlang infolge großer Dürre. Im zweiten Falle wurden Kalt- und Heißmist auf einer behelfsmäßigen Gärstatt erzeugt. Bei den Verlustberechnungen schnitt der Heißmist besonders bezüglich Trockensubstanz erheblich schlechter ab als der Kaltmist. Auch im Feldversuch zu Kartoffeln war der Kaltmist dem Heißmist überlegen. Verff. wollen keine weittragenden Schlüsse aus ihren Ergebnissen ziehen, da nach ihrer Meinung die chemische Untersuchung von Stalldüngersorten nur mit Vorsicht ausgewertet werden darf. Anscheinend haben Verff. in beiden Fällen keinen vorschriftsmäßigen Heißmist gewonnen. R. Koch (Berlin).

Jensen, H. L., The microbiology of farmyard manure decomposition in soil. III. Decomposition of the cells of micro-organisms. (Journ. Agric. Sci. Vol. 22. 1932. p. 1—25.)

Dried cell material of nine fungi, one actinomyces and two bacteria were subjected to decomposition in (previously air-dried) soil and in sand at 25° C. In soil, the addition of microbial substance was followed by temporary increases in numbers of bacteria and actinomycetes and by formation of nitrate but no clear influence of the C : N ratio of the materials was observed.

In sand, there was an abundant formation of ammonia after ten days and several of the fungus materials left behind some matter of the character of α-humus. Evidence is produced in support of the view that microbial substance generally contains some material — apart from α-humus —, which does not readily decompose. It is considered probable that this material is comparable with the "ulmin" or "humin" of the soil. It is not identical with chitin which was found to be readily nitrified in the soil.

The author's conception of the decomposition of farmyard manure in soil, based on the results of the experiments described in this series of papers, is summarised. Cunningham (Edinburgh).

Winogradsky, S., Études sur la microbiologie du sol. (Sixième mémoire.) Sur la synthèse de l'ammoniaque par les Azotobacters du sol. (Ann. Inst. Pasteur. T. 48. 1932. p. 269.)

Kostytchew konnte schon 1924 nachweisen, daß bei der Stickstoffbindung durch Azotobacter Ammoniak entsteht. Diese Feststellung ist aber seither nicht bestätigt worden. Das kann nach Ansicht des Verf.s seine Ursache darin haben, daß gewöhnlich unter zu künstlichen, den natürlichen Verhältnissen nicht entsprechenden Bedingungen experimentiert wurde. Einmal ist die Kohlenstoffversorgung bei Ernährung des Azotobakter mit Glukose, Mannit u. dgl. übermäßig reich, und dann ist das Bakterium auch durch die Reinkultur u. a. m. zu sehr seiner natürlichen Umweltfaktoren beraubt. Deshalb versucht Verf. unter Zuhilfenahme seiner Kieselsäureplatten-Methode und Verwendung von Alkoholen und Säuren der Fettreihe als Energiematerial, die Behauptung Kostytchews und seiner Mitarbeiter nachzuprüfen und die Frage nach dem Verlauf der Stickstoffbindung durch Azotobacter einer endgültigen Klärung näher zu bringen. Wenn Azotobacter im Boden für andere Organismen verfügbares Ammoniak bildet, dann sind damit auch alle verschiedentlich laut gewordenen Zweifel an der praktischen Bedeutung der biologischen Stickstoffbindung hinfällig. Bei Verwendung von Natriumsalzen einiger Fettsäuren als Kohlenstoffnahrung für Azotobacter gelingt Verf. tatsächlich der Nachweis der Ammoniakbildung. („Blockierung" des Ammoniak durch Verflüchtigung infolge der Entstehung freien Alkalis.) Mit Glukose oder Mannit als Kohlenstoffquelle kann Ammoniak nur bei fortlaufender künstlicher Alkalisierung des Nährsubstrats oder nach Narkotisierung der Bakterien mit Toluol oder Chloroform nachgewiesen werden. Nach besonderem Verfahren in Glyzerin aufgeschwemmte mazerierte Azotobacterzellen vermögen sogar während mehrerer Tage fortdauernd ungefähr die gleichen Mengen Ammoniak abzuspalten. Damit glaubt Verf. aber die Existenz eines stickstoffbindenden

Enzyms noch nicht bewiesen zu haben. Vielmehr hält er es auf Grund von Überlegungen nicht für ausgeschlossen, daß bei der biologischen Stickstoffbindung ein spezifischer Katalysator wirksam ist etwa entsprechend der Schwermetall-Katalyse bei dem technischen Verfahren. Auf alle Fälle muß aus den eindeutigen Versuchsergebnissen geschlossen werden, daß Stickstoffbindung und Stickstoff-Assimilation bei Azotobacter nicht aneinander gekoppelt sind, und daß ferner bei Mangel an Energiematerial oder anderweitiger Lahmlegung der Stickstoff-Assimilation die Azotobacterzellen das aus elementarem Stickstoff gebildete Ammoniak nach außen abgeben. Damit ist zugleich die hervorragende Bedeutung des Azotobacter für den Stickstoffhaushalt des Bodens außer Zweifel gestellt.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Vandecaveye, S. C., Effects of stable manure and certain fertilisers on the microbiological activities in virgin peat. (Soil Sci. Vol. 33. 1932. p. 279—299.)

The author studied the effects of additions of unsterilised and sterilised stable manure, wheat straw superphosphate, sodium nitrate and lime to a virgin woody-sedge peat, initially rich in microorganisms, on the formation of carbon dioxide, accumulation of nitrate and ammonia and germ content in the peat. The beneficial effects of stable manure are attributed to its content of readily available carbon and nitrogen compounds and not to its addition of microorganisms to the peat. Treatment with superphosphate and sodium nitrate produced no material effect but addition of lime greatly stimulated liberation of carbon dioxide. Cunningham (Edinburgh).

Crowther, E. M., and **Richardson, H. W.,** Studies on Calcium cyanamide I. (Journ. Agric. Sci. Vol. 22. 1932. p. 300—334.)

In soil, conversion of calcium cyanamide to urea and ammonia was complete within a few days. The decomposition of calcium cyanamide was most rapid in soils of high microbiological activity. The final stage of nitrate formation proceeded more slowly than the nitrification of ammonium sulphate. In pot experiments the retardation of nitrate formation from calcium cyanamide was reduced by improved aeration.

Cunningham (Edinburgh).

Mukerji, B. K., Studies on Calcium cyanamide II. (Journ. Agric. Sci. Vol. 22. 1932. p. 335—347.)

Addition of calcium cyanamide increased the bacterial numbers (Thornton's medium) and carbon dioxide production in soils. Improved aeration of soil increased numbers of bacteria. It also hastened production and disappearance of ammonia and reduced the nitrification lag and increased the final accumulation of nitrate from calcium cyanamide.

Calcium cyanamide was more toxic than dicyanodiamide to the nitrifying organisms in solutions. Its lower toxicity in soils is attributed to its rapid conversion to urea. Cunningham (Edinburgh).

Cobb, Mary J., A quantitative study of the microörganic population of a hemlock and a deciduous forest soil. (Soil Sci. Vol. 33. 1932. p. 325—345.)

The numbers of bacteria, fungi and actinomycetes in a hemlock and in a decidous forest soil were compared. The effects of moisture, freezing, hydrogen-ion concentration, seasonal influences, temperature and depth

on the numbers of microorganisms in these soil were specially studied. In general, soil moisture exerted a more potent influence than temperature. In the hemlock soil moulds were much more prominent than in the deciduous forest soil. Species of Penicillium and Trichoderma formed the largest part of the fungous population of the soils studied while Mucorales and Aspergilli were very scarce. Cunningham (Edinburgh).

Eichbaum, F., Erfahrungen und Beobachtungen an säurefesten Stäbchen (Wasserbakterien, Leprabazillen, Tuberkelbazillen). I. Beobachtungen an säurefesten Wasserbakterien. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 74. 1932. S. 31—41.)

Eingehende Beschreibung der an den Ausströmungsöffnungen des Frankfurter Leitungswassers reichlich vorhandenen säurefesten Stäbchen. Bemerkenswert und experimentell verwertbar ist ihre Festigkeit gegen oligodynamische Kupfereinflüsse, was ihr Vorkommen (auch in Blasinstrumenten und oft geradezu in Reinkulturen) verständlich macht.

Rodenkirchen (Duisburg).

Lehmann, H., und **Jusatz, H. J.,** Untersuchungen über die Frage, ob sich menschliche Colibakterien von tierischen durch Präzipitation unterscheiden lassen. Zugleich ein Beitrag zur Bedeutung des Colibefundes im Trinkwasser. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 41—60.)

Da auch die serologischen Eigenschaften des Bact. coli außerordentlich wandelbar sind, muß die einseitige Beurteilung von Wässern oder Wasserversorgungsanlagen allein auf Grund des Nachweises von sog. typischen Coli ebenso falsch sein wie die völlige Außerachtlassung eines aus Wasser isolierten Coli, der diese oder jene Eigenschaft nicht mehr aufweist. Alle Versuche, die verschiedenen Coliarten einigermaßen sicher voneinander zu trennen, müssen, der Eigenart dieser Bakterien entsprechend, scheitern.

Rodenkirchen (Duisburg).

Hoder, F., Die oligodynamische Wirkung destillierten Wassers und ihre praktische Bedeutung. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 74. 1932. S. 455—458.)

Destilliertes Wasser, das aus Kupferapparaten gewonnen wird, zeigt starke oligodynamische Wirkungen und ist für bakteriologische Zwecke unbrauchbar. Ebenso physiologische Kochsalzlösung, die aus solchem Wasser hergestellt wird. Destilliertes Wasser, das zu bakteriologischen Arbeiten verwendet werden soll, muß in einem Glasapparat hergestellt werden. Für gesteigerten Bedarf an Aqu. dest. wird ein von der Fa. Altmann, Berlin NW, Luisenstr. 47, beziehbarer Glas-Destillierapparat empfohlen, der bei 5 Liter Fassungsvermögen stündlich ca. 2 Liter Aqu. dest. liefert. — Auch das Kochsalz ist für das Bakterienwachstum von Bedeutung. Da es an sich schon etwas hemmend auf die Entwicklung der Bakterien wirkt und die Hemmungswirkung mit dem Grade seiner Verunreinigung zunimmt, eignet sich für bakteriologische Zwecke allein Kochsalz pro anal.

Rodenkirchen (Duisburg).

Minkewitzsch, I. E., und **Rogosin, J. J.,** Das Milchkoagulationsverfahren für die Bestimmung des Colititers im Wasser. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 159—161.)

Ein der Bulir-Probe an Empfindlichkeit und Spezifität etwa gleichwertiges, aber wesentlich einfacheres Verfahren für den Nachweis von Colibakterien in Wasser stellt die Verwendung folgenden Substrates dar: 800 ccm Leitungswasser + 200 ccm Magermilch + 10 g Pepton werden im Autoklav 15 Min. bei 120° sterilisiert. Bei Einimpfung colihaltigen Wassers setzt innerhalb von 24 Std. Gerinnung und Gasbildung ein. Zur Nachprüfung bedarf es natürlich der Ausspatelung auf Endo- oder Drigalskiplatten und der Identifikation der Laktose spaltenden Kolonien. Für diesen Zweck hat sich Verf. eine Versuchsreihe aus laktosehaltigem Peptonwasser (im Reagenzglas mit Gärröhrchen, 24 Std. × 37°), aus Simmons-Substrat (24 Std. × 37°) und aus Bulir-Bouillon (im Reagenzglas mit Gärröhrchen, 24 Std. × 46°) bewährt. Warmblüter-Colibakterien bilden in Laktose- und Bulir-Bouillon Gas, lassen dagegen das Simmons-Substrat unverändert. — Bereitung des Simmons-Substrates: 1,5 Natrium-Ammoniumphosphat, 1,0 Kaliummonophosphat, 0,2 Magnesiumsulfat, 2,5—3,0 neutr. Natriumzitrat, 1000 Aqu. dest. und 20 in Aqu. dest. wiederholt gewaschenes und entsalztes Agar-Agar werden bis zur Lösung erhitzt, filtriert, mit 10 ccm Bromthymolblau in 1,5proz. alkohol. Lösung als Indikator versetzt und schließlich 15 Min. bei 120° sterilisiert. Das Medium ist olivgrün gefärbt und wird in Petrischalen ausgegossen. Während Bact. coli kein Wachstum gibt, wächst die Aerogenes-Untergruppe recht gut, wobei das Substrat grell blaue Farbe annimmt, bisweilen mit gelblicher Tönung.

Rodenkirchen (Duisburg).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Palm, B., Pflanzenkrankheiten aus Guatemala. (Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten u. Pflanzenschutz. Bd. 42. 1932. S. 11—17.)

Es werden eine größere Anzahl, meist bekannter, mehr oder weniger ubiquistischer Krankheiten aufgeführt. Verf. beobachtete, daß die Art der Unkrautvertilgung für das Auftreten von Omphalia flava besonders wichtig ist. Kaffeepflanzungen, in denen das Unkraut stark untergegraben wurde, waren fast frei von der Krankheit, während solche, in denen das Unkraut abgeschnitten und einfach in Haufen gesammelt wurde, kranke Bäume aufwiesen.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Cron, H., Erfahrungen mit der Bekämpfung von Schädlingen und Krankheiten auf der Rübensamenzuchtstation in Semčice. I. (Ztschr. f. d. Zuckerind. d. Tschechosl. Rep. Bd. 56. 1932. S. 435—440.)

Folgende Schädlinge der Zuckerrübe wurden mit Erfolg bekämpft: die Runkelfliege mit Hilfe klebriger Netze. Ein Netz von 7,5 m Länge und 0,5 m Höhe wurde mit Fliegenleim bestrichen und an seinem unteren Ende ein Streifen Sackleinwand angenäht. An vier Stangen wurde das Netz nun über das Rübenfeld getragen, so daß der Leinwandstreifen über die Pflanzen hinwegglitt. Die aufgescheuchten Fliegen flogen gegen das Netz und blieben kleben. Versuche, die Fliegen durch eine NaF-Zuckerlösung zu vergiften, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis. — Mäuse (auf dem Rübensamenspeicher) wurden ebenfalls durch Fliegenleim gefangen (Leimstreifen um die Samensäcke, Nester oder Köder). — Schnellkäfer werden am besten dadurch vertilgt, daß man sie mit der Hand in Wachsleinwandsäckchen abklopft. — Gegen Drahtwürmer bewährten sich Stücke zerschnittener Zuckerrüben,

die als Köder in die Erde eingegraben wurden. Es ist zweckmäßig, die Köder beim Behacken der Rübe abzuklauben. Auf diese Weise werden fast alle vorhandenen Drahtwürmer erfaßt. Aber auch ohne nachträgliches Abklauben erzielt man Erfolge. Die Drahtwürmer ziehen die faulenden Rübenstücke den lebenden Pflänzchen vor, so daß diese überhaupt nicht angegriffen werden oder daß der Angriff erst zu einer Zeit erfolgt, da die Rübenpflanzen schon kräftig und widerstandsfähig sind. — Cercospora-Befall konnte durch Kopfdüngung mit Kalkstickstoff (im Juni) vermindert werden.

Bojanovsky (Aussig).

Schlumberger, O., Die Bewertung der Rhizoctonia-Erkrankungen bei der Pflanzkartoffel-Anerkennung. (Pflanzenbau. Jahrg. 7. 1930/31. p. 237—239.)

Nach Ansicht des Verf.s schließt die durch Rhizoctonia hervorgerufene Erkrankung des Stengelgrundes die Anerkennung nicht aus, da die Tochterknollen nicht angesteckt zu werden brauchen. In dem Vorhandensein von Rhizoctonia-Pocken auf den Knollen, die nur beim Zusammentreffen von verschiedenen für den Pilz günstigen Faktoren eine Gefahr für die Tochterknollen bilden, erblickt Verf. nur dann einen Grund zur Aberkennung, wenn die Knollen gleichmäßig einen starken Befall mit Sklerotien aufweisen.

Friedrichs (Münster).

Feistritzer, W., Merkmale zum Erkennen flugbrandkranker Pflanzen bei Winter- und Sommergerste vor dem Ährenschieben. (Pflanzenbau. Jahrg. 8. 1931/32. S. 16—17.)

Erkennen und Entfernen flugbrandkranker Gerstenpflanzen vor Heraustreten der Ähren aus den Blattscheiden verhindern die Infektion gesunder Bestände. Die kranken Pflanzen sind erkennbar: 1. An der gelblichen Verfärbung der obersten Blattspreite, 2. an der schwärzlichgrünen Farbe des unteren Teiles der Blattscheide infolge Durchschimmerns der Sporenmasse der zerstörten Ähre, 3. an dem Fehlen von Grannenspitzen, die aus der Blattscheide austreten. — Bei Winter- und Sommerweizen ist der Flugbrand nicht in gleicher Weise zu erkennen.

Friedrichs (Münster).

Junge, E., Schäden bei Spritzen mit Obstbaumkarbolineum. (Geisenheimer Mitt. Bd. 46. 1931. S. 88—91, 3 Abb.)

Durch Spritzen mit 10proz. Obstbaumkarbolineum wurden Schäden bei den Sorten Williams Christbirne, le Lectier, Clairgeaus Butterbirne, Clapps Liebling, Diels Butterbirne, Edelcrassane und Madame Verté hervorgerufen. Bei den behandelten Bäumen bleiben die Blütenknospen „sitzen", während die Holzknospen meistens durchtreiben. Die Spritzungen wurden Anfang März bei vollkommener Knospenruhe durchgeführt. Auch aus der Praxis wurden Schäden durch Spritzen mit Obstbaumkarbolineum gemeldet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Liming, O. N., The relation of pentathionic acid and its component constituents to the toxicity of sulphur fungicides. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 143—165, 5 Abb.)

Verf. konnte die früher mit Young gemachten Feststellungen hinsichtlich der Wirkungsweise des Schwefels bestätigen. Danach ist die Wirkung des Schwefels aus einiger Entfernung darauf zurückzuführen, daß

der Schwefel je nach der herrschenden Temperatur in geringerem oder größerem Maße verdampft, sich zunächst amorph absetzt und allmählich auskristallisiert. Aus diesem fein verteilten Schwefel bildet sich durch Oxydation allmählich die fungizide Substanz. Verf. kommt auf Grund seiner Versuche mit allen Verbindungen, die bei der Anwendung von Schwefel entstehen können oder im Schwefel vorhanden sind, zu dem Ergebnis, daß als fungizide Substanz Pentathionsäure anzusehen ist. Verf. hatte früher schon gefunden, daß die Pentathionsäure nur in saurer Lösung wirksam ist. Er suchte nun festzustellen, worauf dies zurückzuführen ist, ob bei Anwesenheit von Sporen je nach dem Aziditätsgrad die Pentathionsäure zersetzt wird oder ob die Permiabilität der Sporenwandung bei verschiedenen Aziditätsgraden verändert wird. Beide Fragen müssen auf Grund der Versuche verneint werden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Wegeleben, R., Nachtfrostverhütung durch künstlichen Nebel. (Dtsch. Ldw. Presse. Bd. 59. 1932. S. 93—94, 106—107, 2 Abb.)

Verf. berichtet über einen Großversuch mit künstlichem Nebel in einer Baumschule. Der Nebel, der durch Auftropfen der Nebelsäure (Chlorsulfonsäure, in der SO_3 gelöst ist) auf gebrannten Kalk erzeugt wurde, verursachte an Fichten und Rotbuchen keine Schäden. Nur in einer Entfernung von 15—20 m wies Hafer, in einer solchen von 10 m Wicken und 50 m entfernt Hederich Ätzschäden auf. Die Nebeldecke verhinderte das Absinken der Temperatur um 3,4° C. An einer anderen Stelle wurden in der gleichen Nacht Tomaten und Frühkartoffeln vernebelt. Auch diese wurden nicht geschädigt. Verf. hält auf Grund dieser Versuche die Bekämpfung des Strahlenfrostes für möglich. Ob Obstbäume durch Säurenebel geschädigt werden, wurde noch nicht untersucht. Besonders hingewiesen wird darauf, daß die Vernebelung auch zum Schutze der Blüte von Sommerroggen in Frage kommt. Die Kosten für Apparate und Material belaufen sich bei dreimaliger Vernebelung auf 4,23 RM. je Hektar im Jahr.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Köhler, E., Zur Biologie und Cytologie von Synchytrium endobioticum (Schilh.) Perc. (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1931. S. 43—55, 17 Abb.)

Die zur Ruhe gekommenen Schwärmer bilden Mittelpunkte von Kopulationsgruppen. Die Zygoten bleiben an Ort und Stelle sitzen und umgeben sich mit einer Plasmamembran. Durch Vaseline wird ein Teil der männlichen Gameten umgestimmt, sie üben auf die in Bewegung befindlichen Gameten eine Anziehungskraft aus, so daß bei der Vaseline Kopulationsgruppen entstehen. Sind die Kopulationsgruppen sehr dicht, so vereinigen sich oft 3 und mehr Gameten zu einer Zygote. Azygoten (Sommersori) und Zygoten (Dauersporangien) lassen sich im frühesten Entwicklungsstadium an der Zahl der Randkörper unterscheiden. Die Randkörper sind die Reste der Blepharoplasten. Riehm (Berlin-Dahlem).

Wallace, J. M., Physiologic specialization in the epiphytology of Puccinia graminis tritici. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. S. 105—142, 4 Abb.)

Verf. stellte in den Jahren 1926—1928 umfassende Untersuchungen

über die Verbreitung physiologischer Formen von Puccinia graminis tritici an, um dabei festzustellen, ob und in welchem Maße eine Wanderung der Sporen vom Süden nach Norden erfolgt. Im Jahre 1926 scheint keine merkliche Süd-Nord-Wanderung stattgefunden zu haben, da die in Texas vorherrschenden Formen im Norden nicht gefunden wurden. Der Verlust durch Rost war 1926 gering. 1927 waren die Formen 18 und 21 in Texas allgemein vorhanden, dieselben Formen waren auch im nördlichen Mississippi weit verbreitet. Der Verlust betrug in dem Sommerweizengebiet über 30 Millionen Bushel. 1928 war die Form 38 vorherrschend in Mexiko, ebenso in Texas. Die Form war auch in den Vereinigten Staaten weit verbreitet. Verf. ist der Ansicht, daß in diesem Jahr zwar ebenfalls eine Süd-Nord-Wanderung stattgefunden hat, daß aber eine Rost-Epidemie wie 1927 nicht zustande kam, weil Marquis-Weizen resistent gegen diese Form ist und die allgemein angebauten Durum-Sorten verschieden reagieren. Verf. glaubt, aus seinen Untersuchungen ferner schließen zu können, daß einige physiologische Formen in den Vereinigten Staaten und auch in Canada heimisch sind, die auf das Vorhandensein von Berberitzen zurückgeführt werden müssen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G., und **Straib, W.,** Zur Frage der Konstanz des Infektionstypus von Puccinia triticina Erikss. (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1931/32. S. 57—64, 1 Taf.)

Amerikanische Weizensorten, die gegenüber Pucc. triticina Form XIV bei 20° C hoch resistent waren, erwiesen sich bei etwa 6° C als stark anfällig. Bei anderen Sorten wurde der Infektionsgrad nicht oder nur unmerklich durch die Temperatur beeinflußt. Riehm (Berlin-Dahlem).

Tapke, V. F., Seed treatments with chemical dusts and formaldehyde for smut control in oats. (Phytopathology. Bd. 22. 1932. S. 429—441.)

Das Auftreten von neuen physiologischen Formen von Ustilago avenae und U. levis in Amerika, durch die auch bisher als resistent bekannte Sorten befallen werden, macht die Bekämpfung mit chemischen Mitteln dringend notwendig. Bei den Versuchen des Verf.s von 1928—1931 wirkte Formaldehyd im Tauchverfahren am besten, befriedigend war die Wirkung von Dubay dusts Nr. 655 und Nr. 665, von den formaldehydhaltigen Trockenbeizmitteln Smuttox, Kantsmut und Corona Oat dust sowie von Ceresan — das amerikanische entspricht in seiner Zusammensetzung nicht dem deutschen —. K-l-C und K-l-D wurden nur 1928 geprüft, ersteres wirkte fast ausreichend, letzteres war weniger gut. Ansbacher Grain Dust und Wa-Wa-Dust wurden nur 1930 einer Prüfung unterzogen. Sie zeigten in einem Teil der Versuche gute Wirkung, in anderen versagten sie. Ungenügende Wirkung wurde durch Behandlung mit Abavit B, „Anchor"-Schwefel, Tillantin, D.D.D. Nr. 68, Niagara-Schwefel Nr. 76, 77, 78 und 79, Sterocide und Tutan erzielt. Der Auflauf wurde 1931 nur durch Formaldehyd um ein geringes von 93,3 auf 88,8% herabgesetzt. Der Verlust durch Ustilago avenae und U. levis in den Vereinigten Staaten wird auf 50 Millionen Bushel geschätzt. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Snyder, W. C., Seed dissemination in fusarium wilt of pea. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 253—257.)

Die Untersuchungen des Verf.s ergaben, daß Fusarium orthoceras var. pisi gelegentlich mit dem Samen verbreitet werden kann. Wenn auch der Übertragung auf diese Weise in infiziertem Boden keine große Bedeutung zukommt, so liegt doch die Gefahr nahe, daß der Erreger auf bisher nicht infizierte Böden übertragen wird.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Blank, L. M., The pathogenicity of Fusarium conglutinans Wr. at low soil temperatures. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 191—195.)

Verf. konnte feststellen, daß verschiedene Kohlarten auch bei Bodentemperaturen von etwa 12° C von Fusarium conglutinans infiziert werden können. Bisher war die Meinung verbreitet, daß bei Temperaturen unter 17° C keine Infektion einträte.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Rathschlag, H., Vorkommen und Verbreitung der Fußkrankheitserreger in der Börde im Jahre 1930/31. (Angew. Bot. Bd. 14. 1932. S. 28—33.)

In der Börde wurden als Erreger der Fußkrankheit des Getreides Fusarium culmorum, F. nivale und Ophiobolus graminis verbreitet gefunden; das Vorkommen des letzteren, des gefährlichsten der drei Parasiten, ist in der genannten Magdeburger Gegend sehr beschränkt. Nach Verf.s Untersuchungen findet die Infektion der Wirtspflanze im Jugendstadium nicht statt. Im allgemeinen tritt die Erkrankung im Feldbestande erst etwa in der Grün- und Gelbreife des Halmes äußerlich stark in Erscheinung.

Thies (Hannover).

Venkatarayan, S. V., Phytophthora arecae, parasitic on Areca tops, and a strain of P. palmivora Butl. (P. Faberi Maubl.) on a new host, Aleurites fordi. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 217—227, 4 Abb.)

Eine Phytophthora, die ein Absterben der Spitzen von Areca catechu verursachte, bildete in Kultur mit dem heterothallischen Stamm von Santalum album zusammengebracht, Oosporen. Da bei Zusammenbringen mit dem Stamm von der Areca-Nuß keine Bildung von Oosporen erfolgte, schließt Verf., daß der Stamm mit dem von der Areca-Nuß identisch ist. Ein Stamm von Phytophthora palmivora wurde auf einem bisher noch nicht beschriebenen Wirt Aleurites fordi gefunden. In Kultur schien dieser Stamm mit dem männlichen Stamm von Phytophthora arecae zu bastardieren.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Moritz, O., Entstehungsbedingungen und Verhütungsmöglichkeiten der Ophiobolose des Weizens. (Nachrichtenbl. f. d. Deutschen Pflanzenschutzdienst. Bd. 11. 1931. S. 100—101.)

Verf. konnte bereits in einer früheren Veröffentlichung berichten, daß die Marschböden im Westen Schleswig-Holsteins von der Ophiobolose nicht bedroht sind. Die auf Grund dieser Feststellung ausgesprochene Vermutung, daß ein Zusammenhang zwischen Bodentypus und Gefährdung durch Ophiobolus bestehen dürfte, fand eine weitere Stütze dadurch, daß auf der Insel Fehmarn keine oder nur wenige Schadfälle durch Ophiobolus festgestellt werden konnten. Da bisher Düngungsversuche nur wenig Erfolg brachten,

versuchte Verf. durch Zusatz von Kaolin bzw. Holzkohle die physikalische Struktur des Bodens zu verändern. Infektionen in so behandeltem Boden wurden vollständig unterdrückt. Zusätze von nichtsterilem Boden jeglicher Herkunft verliehen einen gewissen oder sogar sehr starken Schutz, während steriler Boden keinerlei Schutz gewährte oder die Infektion sogar noch verstärkte. Verf. schließt daraus, daß dem biologischen Zustand des Bodens ebenfalls ein bedeutender Einfluß zukommt. Eine ausführliche Mitteilung an anderer Stelle wird in Aussicht gestellt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Haasis, F. W., A study of laboratory methods for investigating the relation between moisture content of wood and fungal growth. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 71—84.)

Verf. beschreibt die bei der Untersuchung der Abhängigkeit des Wachstums von Pilzen von dem Feuchtigkeitsgehalt des Holzes verwendeten Methoden. Versuchsobjekte waren Holz von Pinus ponderosa und Fomes roseus. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Chaudhuri, H., Sclerospora graminicola on bajra (Pennisetum typhoideum). (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 241—246, 3 Abb.)

Verf. untersuchte die durch Sclerospora graminicola hervorgerufene Krankheit von Pennisetum typhoideum. Durch künstliche Infektion mit Oosporen konnte das Krankheitsbild an den Ähren zwar nicht hervorgerufen werden, aber die Blätter unterhalb der Ähre zeigten eine große Zahl von Oosporen. Die Oosporen bleiben 5 Jahre lebensfähig. Verf. nimmt an, daß die Verbreitung durch die Oosporen im Boden erfolgt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Hansen, H. N., und **Davey, A. E.,** Transmission of smut and molds in figs. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 247—252.)

Als Überträger verschiedener Krankheitserreger bei der Feige kommen nach den Untersuchungen der Verff. Milben und Thripse in Frage. Neben der gewöhnlichen Milbe Eriophyes fici wurden Sejus pomi, eine Cheyletus und zwei nicht näher bestimmte Spezies gefunden. Von Thripsen wurden folgende festgestellt: Frankliniella tritici, F. tritici var. californicus, Thrips bremneri, Liothrips ilex, Heliothrips fasciatus, Leptothrips mali. Die früher als Überträger der Erreger bezeichneten größeren Insekten Carpophilus hemipterus und Drosophila ampelophila sind nach Versuchen der Verff. für das Auftreten der Krankheiten an Feigen nicht erforderlich. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bockmann, H., Ein Beitrag zur Biologie und wirtschaftlichen Bedeutung des Erregers der Braunfleckigkeit des Weizens: Macrophoma hennebergii (Kühn). (Angew. Bot. Bd. 14. 1932. S. 79—86.)

Es konnte gezeigt werden, daß die Ausbreitung der Braunfleckigkeit des Weizens nicht durch den Wind direkt verursacht wird, vielmehr tritt diese Krankheit nur in nassen Jahren epidemisch auf, und zwar ist stark lagerndes Getreide durchweg viel stärker befallen als gut stehendes. Durch Bestimmung des Tausendkorngewichtes konnte festgestellt werden, daß

diese Krankheit den Ertrag von Haus aus gesunder Pflanzen kaum, den Ertrag aus konstitutionell geschwächten Pflanzen (hervorgerufen durch übermäßige und einseitige Stickstoffdüngung u. a.) ernstlich beeinflußt.

Thies (Hannover).

Roberts, J. W., und Pierce, L., Zinc-lime: a fungicide for the peach. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. S. 415—427.)

Verff. erzielten mit einer Brühe, die auf 100 l Wasser etwa 800 g Zinksulfat und dieselbe Menge gelöschten Kalk enthielt, Erfolge bei der Bekämpfung von Bacterium pruni. Es sind 5—7 Spritzungen erforderlich. Da das Bakterium durch die Spaltöffnungen eindringt, ist besondere Sorgfalt auf die Bespritzung der Blattunterseiten zu legen. Die Brühe scheint bei schwächerem Befall auch den durch Cladosporium carpophilum verursachten Schorf und die durch Sclerotinia fructicola hervorgerufene Braunfäule ausreichend zu bekämpfen. Selbst bei Anwendung der doppelt so starken Brühen wurden Beschädigungen der Blätter und Früchte nicht beobachtet. Die Blätter an den bespritzten Bäumen waren oft tiefer grün und größer als an den nicht gespritzten. Bleiarsenat, der Zink-Kalkbrühe zugesetzt, verursachte im allgemeinen weniger Schäden, als wenn es schwefelhaltigen Brühen zugesetzt wurde oder wenn es allein verspritzt wurde. Zink-Kalk als Stäubemittel angewendet, war weniger wirksam. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Mackie, W. W., and Esau, K., A preliminary report on resistance to curly top of sugar beet in bean hybrid and varieties. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 207—216, 6 Abb.)

Die als „curly top" (Spitzenkräuselkrankheit) der Zuckerrübe bezeichnete Viruskrankheit geht nach den Ergebnissen früherer Untersuchungen auch auf Phaseolus und Vigna sinensis über. Verff. fanden, daß es Sorten von Phaseolus vulgaris und P. lunatus gibt, die in höchstem Maße resistent sind. Es scheint eine weitgehende Korrelation zwischen rosa und roter Farbe der Samenschale und Resistenz gegen „curly top" zu bestehen. Aber auch weiße Sorten, die hohe Resistenz zeigten, wurden gefunden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

White, R. P., Chloroses of the rose. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 53—69, 5 figs.)

Die Symptome der infektiösen Chlorose von Rosen bei verschiedenen Varietäten und Spezien werden eingehend beschrieben. Die Krankheit wird außerdem mit anderen bei Rosen vorkommenden Chlorosen verglichen.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Quanjer, H. M., Die Autonomie der phytopathogenen Virusarten. (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1931/32. S. 205—224, 2 Abb.)

Verf. weist auf die von ihm und anderen ausgeführten Pfropfungs- und Übertragungsversuche hin, aus denen eindeutig hervorgeht, daß es eine infektiöse, durch Phloemnekrose und Stärkestauung gekennzeichnete Blattkrankheit gibt, die vom Boden nur insofern abhängig ist, als die Pfirsichblattlaus reichlich mit N gedüngte Pflanzen bevorzugt. Es wurden 3 Hauptgruppen unterschieden: anekrotisches Mosaik, d. h. Krankheiten, die sich nur in Mosaikerscheinungen, nicht in Nekrosen äußern, Akronekrose, die sich

im Absterben der jüngsten Stengelteile und einer Fleckennekrose der darauffolgenden Blätter äußert, und akropetale Nekrosen, bei denen die untersten Blätter am stärksten erkrankt sind und die nekrotischen Flecken strichelförmig gestreckt sind. Außerdem gibt es noch Nekrosen, die sich nur an der Knolle zeigen: die Pseudonetznekrose, bei der innerhalb und außerhalb des Gefäßbündelringes braune Flecken auftreten und die konzentrische Nekrose oder Korkringigkeit, die ebenfalls infektiös sind.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Klebahn, H., Fortsetzung der experimentellen Untersuchungen über Alloiophyllie und Viruskrankheiten. (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1931. S. 1—36, 4 Abb.)

Das wirksame Agens des Tabakmosaiks wird von Glyzerin wie von einem Lösungsmittel aufgenommen und durch Alkohol aus der Lösung gefällt; hieraus kann man schließen, daß das Tabakmosaik nicht durch einen lebenden Organismus hervorgerufen wird. — Aus den Versuchen mit verschieden dichten Filtern können noch keine sicheren Schlüsse bzgl. der Teilchengröße gezogen werden, doch glaubt Verf. annehmen zu können, daß die Virusteilchen annähernd so groß sind wie die Teilchen des Kongorots. Einige der Kartoffelmosaikkrankheiten werden durch ein ultrafiltriertes Virus hervorgerufen; bei Aucuba-Mosaik war die Impfung erfolglos. — Pfropfversuche bestätigten die Tatsache, daß die Abutilon-Chlorose durch Pfropfung übertragen werden kann. Die Übertragung gelingt aber nicht nur bei verwachsenen Trieben, sondern auch dann, wenn die Stämmchen wiederholt einige Tage bis zur Kallusbildung aneinander gepreßt wurden. Impfversuche mit Ultrafiltrat verliefen negativ. — Die früher als Erreger der Alloiophyllie der Anemonen betrachteten „Skolekosomen" hält Verf. jetzt für Stoffwechselprodukte. Mit filtriertem Virus gelangen einige Infektionen.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Zacher, F., Beiträge zur Kenntnis phytophager Milben. (Zoolog. Anzeiger. Bd. 97. 1932. S. 177—185.)

Paratetranychus nuptialis n. sp. trat schädlich an Myrthenstecklingen auf. Eine ebenfalls neue Art der gleichen Gattung, als P. brevipilosus beschrieben, beschädigte neben der gewöhnlichen Spinnmilbe der Koniferen, P. ununguis, Fichtenstangenhölzer bei Schwetzingen in Baden. Die auf Rotbuche vorkommende Art ist Epitetranychus fagi. Die Gattung Tenuipalpus ist als ursprünglicher Bestandteil der deutschen Fauna anzusehen. Die Lindenspinnmilbe, Tetranychus telarius, tritt nach der Überwinterung an der Erde ihre Aufwärtswanderung, je nach der Witterung des Jahres früher oder später, im April oder Mai, an. Gleichzeitig wandert Allothrombidium aphidis abwärts. Bryobia praetiosa trat in Berlin als Hausplage auf. Die Erscheinung beruht auf Einwanderung in die Häuser.

K. Friederichs.

Austin, M. D., Observations on the hibernation and spring oviposition of Lygus pratensis Linn. (Ent. Monthl. Magaz. 1931. p. 149—152. Ref. in: Rev. appl. Ent. Vol. 19. p. 571.)

Die Wanze Lygus pratensis überwintert nach den Befunden des Verf.s in Südost-England nur als Imago (in geschützt liegenden Kom-

posthaufen, Abfällen in Glashäusern und um diese und in ähnlichen Lagen), und es tritt während der Überwinterung eine hohe Sterblichkeit ein. Fortpflanzung findet im Frühling und im Herbst statt. Die Eier werden im Frühling in Knospen und Blütenstengel von Senecio vulgaris gelegt. Da der Wanzenbefall an Chrysanthemen, wie beobachtet wurde, gegen Ende Juli aufhört, um sich später zu erneuern, so wird vermutet, daß es 2 Generationen im Jahre gibt. K. Friederichs.

Smith, C. E., and Allen, N., The migratory habit of the spotted Cucumber beetle. (Journ. econ. Vol. 25. 1931. p. 53—57.)

Der Blattkäfer Diabrotica duodecimpunctata, Schädling an Gurken, wandert regelmäßig im Frühling durch das Tal des Mississippi nordwärts, wobei er, günstiges Wetter vorausgesetzt, in 2—4 Tagen etwa 500 englische Meilen fliegt. Die Nachkommen wandern im Herbst wieder südwärts; Überwinterung kommt normalerweise nördlich von Mittelmissouri nicht vor. Man kann aus der Schrift nicht ersehen, was aus den südwärts gewanderten Käfern wird; es heißt nur, daß „echte Überwinterung von langer und beständiger Dauer auch im Süden nicht vorkomme". Die im Frühjahr wandernden Käfer sind Jungtiere. Für die Wanderungen ist eine Mindesttemperatur von 60—65° F nötig. Die Wanderungen erfolgen mit dem Winde. Schon einige Stunden vorher hören die Käfer auf zu fressen, begeben sich an die Spitze der Pflanzen und fliegen schließlich mit größerer Geschwindigkeit als bei lokalen Flügen davon. K. Friederichs.

Noble, W. B., Two wild grasses as hosts of the Hessian fly Phytophaga destructor. (Journ. agric. Res. Vol. 42. 1931. p. 589—592.)

Die Hessenfliege kann in Nordamerika ihre Entwicklung in den wilden Gräsern Agropyron repens und Elymus canadensis vollenden, wiewohl weniger leicht als in Weizen. Sie brütet in der Natur zuweilen in diesen Gräsern und mag sich somit bei Fehlen von Weizen in ihnen erhalten können. K. Friederichs.

Hartzell, F. Z., Relation of shelter to abundance of Pear midge. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 351—355.)

Die Birngallmücke, im Staate New York recht schädlich, kann schwer durch Insektizide erfaßt werden, da die dafür in Betracht kommende Zeitspanne zur kurz ist, um genau getroffen zu werden. Daher ist es wichtig, die ökologischen Bedingungen, welche die Mücke begünstigen oder ihr entgegenwirken, genau zu kennen, um vielleicht davon zum Schutz der Bäume Gebrauch machen zu können. Zu den Bedingungen, welche der Mücke günstig sind, gehört Windschutz. Mit der Entfernung von einem Windschutz irgendwelcher Art nimmt die Infektion mehr und mehr ab.

K. Friederichs.

Searls, E. M., A preliminary report on the resistance of certain legumes to certain homopterous insects. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 46—49.)

In Wisconsin wurde festgestellt, daß gewisse Erbsen und Luzernesorten weniger von der Blattlaus Illinoia pisi und der Zikade Empoasca fabae befallen wurden als andere. Worauf die geringere Anfälligkeit beruht, ist noch nicht bekannt, doch ist der Befall um so geringer, je mehr die Farbe der Pflanze ins Gelbliche hinüberspielt. K. Friederichs.

Murphy, D. F., and **Peel, C. H.,** Insecticidal activity of aliphatic thiocyanates. I. Aphis. (Journ. econom. Entom. Vol. 25. 1932. p. 123—129.)

Eine Lösung von 0,0625% aliphatischem Thiocyanat mit einem Zusatz von 0,25% Seife tötete 98,58% Blattläuse (Aphis rumicis) auf verschiedenen Pflanzen ab, ohne daß diese selbst litten. Bei Zusatz von 0,5% Penetrol wurden 99% abgetötet. Bei Feldversuchen wurden ebensogute Ergebnisse erzielt. K. Friederichs.

Hartzell, A., and **Wilcoxon, F.,** Some factors affecting the efficiency of contact insecticides. II. Chemical and toxological studies of pyrethrum. (Contrib. Boyce Thompson Instit. Vol. 4. 1932. p. 107—117.)

Es wird eine Methode beschrieben, wie der vergleichsweise Giftwert von verschiedenen Posten Pyrethrumblüten gegenüber „Aphis rumicis" ohne einen Zusatz, der die Benetzungsfähigkeit erhöht, festgestellt werden kann. Die Blüten verlieren an Pyrethrin durch Hitze, Sonnenlicht und ultraviolettes Licht und damit sinkt ihr Giftwert. Die Extrakte erwiesen sich als Berührungsgift für die verschiedensten Insekten, selbst wenn das Gift nur auf Körperstellen gebracht wurde, die von lebenswichtigen Organen weit entfernt sind, z. B. auf ein Bein, und verhindert wurde, daß der übrige Körper damit in Berührung kam. In die Leibeshöhle eingespritzt, verursachten die Extrakte fast sofort Vergiftungssymptome. Bei gewissen Raupen schien die vordere Körperregion empfindlicher als die hintere zu sein. Bei Käfern der Spezies Macrodactylus subspinosus, die sich in moribundem Zustand befanden, beschleunigte sich der Tod oder die Wiederherstellung von der Vergiftung, wenn sie höherer Temperatur ausgesetzt wurden. K. Friederichs.

Drake, C. J., Travis, B. V., and **Collins, E. V.,** A preliminary report on the control of white grubs with a rotary plow. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 199—206.)

Durch Pflügen mit einer Fräse (rotary plough) wurden 96,7% der im Boden enthaltenen Engerlinge getötet. Die Anwendung muß natürlich zu einer Zeit erfolgen, wenn die Engerlinge sich durchweg oberhalb der Pfluglinie befinden. Es wird daher auch über Wanderungen der Engerlinge auf und ab im Boden berichtet. In einem acre jüngfräulicher Weidefläche wurden durchschnittlich fast 182 000 Engerlinge festgestellt. Der Boden enthielt keine größeren Steine. Es findet in der bekannten Weise eine völlige Durcharbeitung und Pulverisierung des Bodens statt, wobei außer den Engerlingen auch Erdraupen, Drahtwürmer, Feldmäuse, Maulwürfe und zahlloses andere Getier zermalmt wird. Über die ausgesprochen dysbiozönotische Wirkung dieser Art der Bestellung des Feldes macht sich der Verf. offenbar keine Gedanken. K. Friederichs.

Koidsumi, K., Quantitative studies on the lethal action of X-rays upon certain insects. (Journ. Soc. trop. Agric. Vol. 2. 1930. p. 243—262.)

Zwei in Formosa schädliche Fruchtfliegen, Dacus cucurbitae und dorsalis, können in jedem Stadium durch Röntgenstrahlen abgetötet werden, wiewohl früher festgestellt wurde, daß kleine Dosen davon

die Entwicklung von Insekten beschleunigen. Die Fruchtfliegen werden im Ei- und Larvenstadium mit fortschreitender Entwicklung widerstandsfähiger, zu Beginn der Verpuppung sind sie es sehr wenig, hernach aber steigert sich wiederum die Widerstandsfähigkeit mehr und mehr. Die Wirkung verschiedener Grade von Röntgenbestrahlung drückt Verf. durch die Formel $N = No^{e^{kx}}$ aus, wobei N die Anzahl der durch die Strahlen getöteten Insekten bedeutet, No die der anderweitig sterbenden, X die Röntgenstrahlen-Dosis und e die Napiersche logarithmische Basis. In einer weiteren Formel wird die Verlängerung des Vorpuppen-Stadiums durch Röntgenstrahlen bei Drosophila auf Grund der vorliegenden Angaben anderer Autoren ausgedrückt. Diese beiden Formeln sind analog derjenigen der radiochemischen Inaktivierung verschiedener Enzyme. „Radiochemische Phänomene sowohl wie radiobiochemische Phänomene unterliegen der allgemeinen photochemischen Reaktion und werden dargestellt durch das Weber-Fechnersche psychophysische Gesetz oder dessen Erweiterung." K. Friederichs.

Betrem, J. G., Takkensteifte en boeboek. (Bergcultures. Jaarg. 6. 1932. p. 57—64.)

Das bisher dem „takkenboeboek" genannten Borkenkäfer allein zugeschriebene Absterben von kleinen Zweigen des Kaffeebaums hat in vielen Fällen andere Ursachen. Selbst wenn ein Bohrloch des Käfers an dem abgestorbenen Zweig zu sehen ist, braucht dieser das Absterben nicht verursacht zu haben, sondern häufig kommt Pilzbefall, die „topsterfte" genannte Krankheit oder allgemeine Stockung des Wachstums des Baumes hinzu. Die Bodenbeschaffenheit hat viel damit zu tun. Die Höhe des Borkenkäferbefalls und der Schaden durch Verlust von Zweigen gehen demnach nicht parallel. K. Friederichs.

Thomas, C. A., Observations on mushroom insects. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 322—331.)

Eine Übersicht der Insekten, welche die Champignonkultur in Pensylvanien schädigen: Milben, Springschwänze, Mücken- und Fliegenlarven. Andere sind von geringerer Bedeutung. Die Mittel zur Abwehr dieser Insekten werden bezeichnet, und zwar in der Einleitung die richtige Behandlung des Mistes vor der Verwendung und beim Einbringen. Letzteres soll schnell geschehen, damit die Hitze sich erhält; der Raum werde alsdann dicht abgeschlossen. Die Mücken und Fliegen können in Massen in Lichtfallen gefangen werden, die einfach aus elektrischem Licht bestehen, worunter sich ein flaches Gefäß mit Petroleum befindet. Auch kann man viele Fliegen an Fenstern abfangen, die daher nicht fehlten sollen. Weiter kommen Insektenpulver und Räucherungen mit Blausäuregasen oder Tabakpräparaten in Betracht. Gegen die Springschwänze wird ebenfalls Calciumcyanid zu der Zeit, wenn die Selbsterhitzung des Mistes sie an die Oberfläche treibt, empfohlen, sonst Nikotin-Kalkstaub. Gegen Springschwänze auf wachsenden Pilzen wird Tabakstaub verbrannt. K. Friederichs.

Triffitt, M. J. (London), Note on a fungus parasite associated with Heterodera schachtii infections on potatoes. (Journ. Helminthol. Vol. 9. [1931.] p. 47—48.)

In den Wurzeln von Kartoffelpflanzen, die von Heterodera

schachtii befallen waren, fand Verf. in bestimmten Gegenden einen Pilz, der als Colletotrichum atramentarium (Berk. u. Br.) bestimmt wurde. Sein Vorhandensein könnte von Bedeutung sein für das Zustandekommen der „Kartoffelkrankheit".

von Schuckmann (Berlin).

Imperial Bureau of Agricultural Parasitology. On the eelworm Heterodera schachtii as a potential danger to the sugar-beet industry in Britain. (Journ. Helminthol. Vol. 9. [1931.] p. 97—104.)

Heterodera schachtii befällt die Wurzeln von Zuckerrüben und ist die Ursache der unter der Bezeichnung „Rübenmüdigkeit" bekannten Krankheit. In Groß-Britannien ist der Wurm als Kartoffelparasit weit verbreitet und kommt auch an Mangold häufig vor. Es besteht die Gefahr, daß er auch dort an den Zuckerrüben auftritt, und deshalb werden vorbeugende Maßnahmen empfohlen, die die in Groß-Britannien neu entstandene Zuckerrüben-Industrie vor den Schäden, die durch H. schachtii angerichtet werden könnten, schützen sollen. So soll z. B. Rübensamen, der aus dem Ausland eingeführt wird, mit trockener Hitze (5—10 Min. lang 65—70° C) behandelt werden, und Land, auf dem mit H. schachtii infizierte Kartoffeln gestanden haben, soll, wenn irgend möglich, nicht mit Zuckerrüben bestellt werden. von Schuckmann (Berlin).

Triffitt, M. J. (London), On the eelworm Heterodera schachtii attacking peas in Britain. (Journ. Helminthol. Vol. 9. [1931.] p. 175—178.)

Beschreibung des Befalls von Erbsenfeldern in Groß-Britannien durch die Nematodenart Heterodera schachtii.

von Schuckmann (Berlin).

Triffitt, M. J. (London), On the occurrence of Heterodera radicicola associated with Heterodera schachtii as a field parasite in Britain. (Journ. Helminthol. Vol. 9. [1931.] p. 205—208.)

Heterodera radicicola war bisher in Groß-Britannien nur als Parasit von Gewächshaus-Tomaten und -Gurken bekannt. Verf. konnte diese Nematodenart aber auch in Gallen an Pastinakwurzeln und Mohrrüben, die auf freiem Felde gewachsen waren, feststellen. Die Infektion mit dem genannten Parasiten wurde nach einiger Zeit durch eine solche mit Heterodera schachtii abgelöst.

von Schuckmann (Berlin).

Triffitt, M. J. (London), On the pathogenicity of Heterodera schachtii to potatoes and mangolds. (Journ. Helminthol. Vol. 9. [1932.] p. 1—16.)

Die Untersuchungen des Verf.s ergaben, daß Heterodera schachtii zwar der Hauptfaktor ist, durch den die „Kartoffelkrankheit" verursacht wird, das aber unter günstigen Wachstumsbedingungen die Pflanzen neue Wurzeln treiben und dadurch den durch die Würmer angerichteten Schaden wieder ausgleichen können. Mangoldpflanzen leiden, wahrscheinlich infolge der Begrenztheit ihres normalen Wurzelsystems, viel mehr unter der Heterodera-Infektion. Außer Heterodera schachtii sind noch einige andere Faktoren für das Auftreten der Krankheitssymptome bei der Kartoffel verantwortlich; die Natur dieser Faktoren ist noch nicht

näher bekannt, es ist aber wahrscheinlich, daß sie das Wachstum der Pflanze ungünstig beeinflussen und infolgedessen auch das Treiben neuer Wurzeln verhindern. Wurzelausscheidungen von Kartoffeln und Senfpflanzen üben, wenn im Übermaß vorhanden, in gutem Boden keinen das Wachstum hindernden Einfluß auf Kartoffeln aus; ihr Einfluß auf die Pflanzen bei Anwesenheit von Heterodera bedarf noch näherer Untersuchung. Bei Kartoffeln und Mangold treten infolge der Anwesenheit der Nematoden histologische Veränderungen auf, die sich nur wenig von den bei Zuckerrüben beschriebenen unterscheiden. In gewissen Böden tritt ein noch nicht näher bestimmter Pilz zusammen mit H. schachtii auf, was möglicherweise von Einfluß ist auf die Entstehung von Krankheitssymptomen.

von Schuckmann (Berlin).

Triffitt, M. J. (London), Preliminary note on the use of root excretions as a method of controlling the nematode Heterodera schachtii. (Journ. Helminthol. Vol. 10. [1932]. p. 181—182.)

Von zwei nebeneinander liegenden, gleichgroßen Feldern, auf denen im Jahre 1930 durch Heterodera schachtii an Kartoffeln Schaden angerichtet worden war, wurde im Jahre 1931 das eine mit Gras und Getreide, das andere nur mit Getreide bestellt. Im frühen Frühjahr sowie nach der Getreideernte und im September wurden Bodenproben von beiden Feldern untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, daß auf dem nur mit Getreide bestellten Feld kaum eine Verminderung der Zahl der noch alle ungeschlüpften Eier enthaltenden Cysten von Heterodera schachtii eingetreten war. Auf dem mit Gras und Getreide bestellten Feld hatte sich dagegen die Zahl der noch völlig gefüllten Cysten um 23,6% vermindert und die Zahl der ¾, ½ und ¼ gefüllten Cysten hatte entsprechend zugenommen. Die Absonderungen der Graswurzeln hatten augenscheinlich bei einem Teil der Cysten anregend auf das Ausschlüpfen der Wurmlarven gewirkt. Das Gras hatte sich bei Vorversuchen als immun gegenüber dem an Kartoffeln angepaßten Heterodera-Stamm erwiesen. Vorläufige chemische Untersuchungen ergaben, daß die betreffenden Absonderungen der Graswurzeln nicht flüchtig sind und Austrocknung vertragen, ohne an Wirksamkeit zu verlieren.

von Schuckmann (Berlin).

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 3. Oktober 1932.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 87. No. 5/8.
Ausgegeben am 11. November 1932.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Apiculatushefen.

(Mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung.)

[Aus der Pflanzenphysiologischen Versuchsstation Geisenheim a. Rh.]

Von **Chas. J. G. Niehaus.**

Mit 8 Abbildungen im Text und 3 Tafeln.

Einleitung.

Über die Hefen aus dem Formenkreis von Saccharomyces apiculatus Reess-Hansen liegt schon eine größere Zahl von Untersuchungen vor. Ausführliche Literaturangaben finden sich bei Klöcker (1915). Als weitere wichtige Arbeiten seien die von Klöcker (1913), Will (1916 a und b), Janke (1923 und 1928) und Kufferath (1929) genannt. Trotzdem gelangt man beim Studium der einschlägigen Literatur zu dem Schluß, daß die auf Weinbeeren vorkommenden zugespitzten Hefen noch nicht eingehend bearbeitet worden sind.

Die meisten bisher genauer untersuchten Vertreter dieser Gruppe stammen entweder aus Gartenerde (Hansen 1911, Klöcker 1912 und 1913), von Baumrinde (Klöcker 1912 und 1913) oder aus Brauereibetrieben (Will 1916 a). Zwar sind die von Röhling (1905) untersuchten Rassen und 2 der Stämme, die Will beschrieben hat, aus Weinbergserde oder von Traubenbeeren isoliert worden, aber sie stammen aus einem verhältnismäßig kleinen Weinbaugebiet. Die Befunde der genannten Forscher lassen deshalb keine allgemeine Übersicht über die auf Weinbeeren vorkommenden Formen der Gattung zu.

Meistens waren bei den Untersuchungen über diese Organismen mehr praktische Gesichtspunkte maßgebend, ihr Auftreten auf Traubenbeeren, Obst und in Würze und Bier, ihre Fähigkeit zur Vergärung der verschiedenen Zuckerarten, ihre Rolle bei der Gärung von Fruchtsäften usw. Diese Befunde sind aber ohne tieferen Zusammenhang und ohne genauere Angaben über die angewandten Arbeitsmethoden veröffentlicht, wodurch ihre wissenschaftliche Bedeutung beeinträchtigt wird.

Einer besonderen Klärung bedürftig schien vor allem auch die Frage der Sporenbildung. Bis zum Jahre 1929 wurde allgemein angenommen, daß, mit Ausnahme der zur Gattung Hanseniaspora gehörenden Arten und Rassen, die zugespitzten Hefen asporogen sind. In diesem Jahre aber berichtete Kufferath (1929), daß diese Formen nach seinen Beobachtungen doch zu den sporenbildenden Hefen gehören und zwar selten, aber doch deutlich nachweisbar je eine Spore im Askus bilden.

Als ich daran ging, diese Organismen nochmals zu untersuchen, war mein Ziel, die auf Weinbeeren vorkommenden zugespitzten Hefen aus verschiedenen europäischen und außereuropäischen Weinbauländern auf ihre

systematische Stellung zu prüfen und ihre physiologischen Eigenschaften festzustellen, soweit sie von wissenschaftlicher und praktischer Bedeutung sind.

Herrn Prof. Dr. K. Kroemer, Vorstand der Pflanzenphysiologischen Versuchsstation zu Geisenheim, möchte ich an dieser Stelle für seine Anregungen und freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen herzlichst danken. Besonders danke ich Herrn Dr. G. Krumbholz für seine Hilfe, die er mir auch bei der Abfassung des deutschen Textes zuteil werden ließ. Fernerhin ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. M. Koernicke, Direktor des Botanischen Instituts der Landwirtschaftl. Hochschule Bonn-Poppelsdorf, Herrn Prof. Dr. C. von der Heide, Vorstand der Weinchemischen Versuchsstation zu Geisenheim sowie Herrn Dr. K. Hennig für ihr freundliches Interesse zu danken.

Im Spätsommer und Herbst 1930 wurden daraufhin vorwiegend von Weinbeeren nachstehende Rassen zugespitzter Hefen isoliert:

A. Aus Deutschland.

Rasse 1: Edelreife Beeren von Riesling, Hattenheim i. Rhg., Lage „Steinberg". Rasse 2: Aprikosen, Geisenheim i. Rhg. Rasse 4: Beeren von Madeleine Angevine, Geisenheim i. Rhg. Rasse 5: Beeren von Fruhem Burgunder, Geisenheim i. Rhg., Lage „Fuchsberg". Rasse 6: Weiße Trauben, Geisenheim i. Rhg., Lage „Fuchsberg". Rasse 7: Birnen aus den Geisenheimer Obstanlagen. Rasse 8: Äpfel aus den Geisenheimer Obstanlagen. Rasse 9: Himbeeren aus den Geisenheimer Obstanlagen. Rasse 10: Pflaumen aus den Geisenheimer Obstanlagen. Rasse 11: Stachelbeeren aus den Geisenheimer Obstanlagen. Rasse 13: Johannisbeeren aus den Geisenheimer Obstanlagen.

Die nachfolgenden Rassen mit Ausnahme von Nr. 149 stammen alle von Weinbeeren:

Rasse 18: Früher Burgunder, Rheinhessen. Rasse 19: Weiße Trauben, Dechantenberg bei Freiburg a. d. Unstrut. Rasse 20: Weiße Trauben, Dechantenberg bei Freiburg a. d. Unstrut. Rasse 21: Weiße Trauben, Dechantenberg bei Freiburg a. d. Unstrut. Rasse 22: Weiße Trauben, Dechantenberg bei Freiberg a. d. Unstrut. Rasse 25: Müller-Thurgau-Trauben, Grunberg in Schlesien. Rasse 26: Riesling, Grunberg in Schlesien. Rasse 27: Fruher Burgunder, Budesheim a. d. Nahe, Rhein-Hessen. Rasse 31: Silvaner, Dechantenberg bei Freiburg a. d. Unstrut. Rasse 32: Blauer Portugieser, Dechantenberg b. Freiburg a. d. Unstrut. Rasse 51: Blauer Portugieser, Budesheim a. d. Nahe, Rhein-Hessen. Rasse 58: Blauer Portugieser, Rhein-Hessen. Rasse 59: Spat-Burgunder, Turmberg b. Durlach. Rasse 69: Blauer Portugieser, Linz a. Rhein. Rasse 70: Spät-Burgunder, Linz a. Rhein. Rasse 72: Mullerrebe, Heilbronn, Lage „Nordberg". Rasse 73: Riesling, Heilbronn, Lage „Vordere Heid". Rasse 74: Blauer Trollinger, Heilbronn, Lage „Breit". Rasse 104: Spät-Burgunder, Unkel a. Rhein. Rasse 112: Riesling, Nierstein a. Rhein. Rasse 113: Silvaner, Nierstein a. Rhein.

B. Aus Luxemburg.

Rasse 127: Riesling, Grevenmacher, Lage „Pietert".

C. Aus Frankreich.

Rasse 37: Gamay Noir, Bordeaux. Rasse 71: Cabernet Sauvignon, St. Emilion. Rasse 79: Rote Traubensorte, Quinzac, Gironde. Rasse 84: Pinot Fin, Quinzac, Gironde. Rasse 85: Cabernet Sauvignon, Quinzac, Gironde.

D. Aus der Schweiz.

Rasse 47: Blauer Portugieser, Stöfa a. Züricher See. Rasse 48: Räuschling, Mannendorf a. Züricher See. Rasse 82: Gutedel, Auvernier, Lage „la Cote". Rasse 83: Cortaillod, Auvernier, Lage „Lavaux". Rasse 94: Hautrive, Auvernier, Domaine de Champreeveyres. Rasse 105: Gutedel, Cressier, Lage „les Cotes". Rasse 106: Pinot Noir, Cressier, Lage „les Cotes". Rasse 107: Weiße Traubensorte, Neuchatel. Rasse 108: Schwarze Traubensorte, Neuchatel. Rasse 109: Rote Traubensorte, Neuchatel.

E. Aus Ungarn.

Rasse 52: Gros Colman, Budapest, Gewächshäuser. Rasse 53: Passatutti, Gebiet von Alföldi. Rasse 54: Mathias Fanosac, Gebiet von Alföldi. Rasse 55: Große Andrassy Cyula, Gebiet von Buda Lashcay. Rasse 56: Leanyka, Gebiet von Buda Laschay. Rasse 86: Gutedel, Gebiet von Villany. Rasse 87: Roter Gutedel, Gebiet von Nyersegi. Rasse 88: Gutedel, Gebiet von Ballatoni. Rasse 89: Gutedel, Gebiet von Badacsonyi. Rasse 90: Muscat-Traube, Gebiet von Pest-Nogradi. Rasse 91: Gutedel, Gebiet von Somloyi. Rasse 92: Gutedel, Gebiet von Gyongyas Visontai. Rasse 128: Muscat Hamburg, Gebiet von Tokay. Rasse 129: Gutedel, Gebiet von Tokay.

F. Aus Rumänien.

Rasse 115: Riesling, Hasenberg, Siebenburgen. Rasse 120: Orange-Traube, Kersbach, Siebenburgen. Rasse 122: Grauer Clevner, Preßberg, Siebenbürgen. Rasse 124: Welsch-Riesling, Hasenberg, Siebenburgen.

G. Aus Bulgarien.

Rasse 98: Kokorko, Sarambei, Universitäts-Sortiment. Rasse 99: Demiat, Sarambei, Universitäts-Sortiment.

H. Aus Rußland.

Rasse 134: Furmint, Krim, Staatliche Weinberge. Rasse 136: Muscat Blanc, Krim, Staatliche Weinberge.

I. Aus Portugal.

Rasse 110: Morisco Tinto, Minho. Rasse 111: Azal, Minho.

J. Aus Spanien.

Rasse 78: Valenci, Valencia.

K. Aus Italien.

Rasse 3: Käufliche weiße Tafeltrauben. Rasse 49: Barbarossa, Bolzano (Bozen), Sud-Tirol. Rasse 50: Käufliche weiße Tafeltrauben. Rasse 100: Inzolia Bianca, Verona, R. Osservatorio Fitopatologio.

L. Aus der Turkei.

Rasse 152: Weiße Traubensorte, aus der Gsgend von Ankara. Rasse 154: Rote Traubensorte, aus der Gegend von Ankara.

M. Aus Sud-Afrika.

Rasse 149: Von der Rinde von Rebstöcken aus den staatlichen Weinbergen, Elsenburg.

Bei der Isolierung verfuhr ich folgendermaßen: Nach dem Eintreffen der meist in Reagenzgläsern übersandten Beerenproben wurden die Beeren, gewöhnlich 5 Stück, in pasteurisierten Traubenmost gebracht. Sobald sich in einem so beimpften Most die ersten Anzeichen von Gärung bemerkbar machten, wurde er mikroskopisch untersucht. Falls zugespitzte Hefen vorhanden waren, wurden Gelatineplatten davon gegossen. Da diese Sproßpilze sich viel schneller als andere Hefen vermehren, sind sie zu Beginn der Gärung immer in der Überzahl vorhanden, so daß ihre Kolonien leicht auf der Gelatineplatte aufgefunden werden können. Wenn die Kolonien auf der Gelatine genügend herangewachsen waren, wurden mehrere in Most abgeimpft. Aus diesen Kulturen wurden dann später mittels der Lindnerschen Tröpfchenkultur die eigentlichen Reinkulturen hergestellt.

Die zugespitzten Hefen sind auf vollreifen Trauben außerordentlich verbreitet. Sie konnten auf 79 von den 144 eingelegten Beerenproben nachgewiesen werden. Die meisten der Beerenproben, auf denen sie nicht vorkamen, wurden schon im Spätsommer entnommen, als die Beeren noch

nicht reif waren. In diesen Proben entwickelten sich meistens Dematium oder Schimmelpilze.

Von 14 Bodenproben von je etwa 30 g, die im Winter in südafrikanischen Weinbergen gesammelt wurden, lieferte nur eine Apiculatus-Hefen.

Versuchstechnik.

Gärversuche: In Halbliterflaschen wurden genau je 400 ccm Most oder Hefewasser eingefüllt. Die Flaschen wurden mit Watte verschlossen und in der üblichen Weise an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 20 Min. in strömendem Dampf sterilisiert. Danach wurden die Flaschen mit je 1 Öse aus 3—4 Tage alten Reagenzglaskulturen beimpft. Die Flaschen wurden jetzt mit Gummistopfen und Gärspunden verschlossen, die vorher gut sterilisiert worden waren. Als Sperrflüssigkeit diente Glyzerin. Die Flaschen wurden täglich gewogen, wobei sie zur Entfernung der Kohlensäure stets ½ Min. vorher kräftig umgeschüttelt wurden.

Bei den Lüftungsversuchen verwandte ich an Stelle der Gärspunde doppelt durchbohrte Korkstopfen mit 2 rechtwinklig gebogenen Glasröhren von etwa 3 mm innerer Weite. Das eine Rohr reichte nur bis in den Hals, das andere bis auf den Boden der Flasche. Die äußeren Enden der Rohre waren zur Filtration der Luft mit Watte verschlossen. Die zugeleitete Luft wurde erst durch 3 hintereinander geschaltete Waschflaschen geleitet, von denen die erste konzentrierte Schwefelsäure, die zweite eine Lösung von Kaliumpermanganat und die dritte konzentrierte Kalilauge enthielt. Die Luft wurde mittels eines Aspirators in der Weise durchgesaugt, daß 1 l Luft in 10 Min. durch die Versuchsflüssigkeit ging. Auf diese Weise wurde morgens und abends durch jede Flasche je 1 l Luft durchgesaugt.

Invertzucker wurde in folgender Weise nach von Lippmann (1895, S. 497) hergestellt: 2,5 g Weinsäure, 0,5 l Hefewasser und 2 kg Rohrzucker wurden in einem großen Rundkolben bis zur vollständigen Inversion des Zuckers 1½ Std. auf 100° C erhitzt. Aus diesem Sirup wurden 2 Lösungen hergestellt, eine mit etwa 90 g, eine andere mit 30 g Invertzucker in 100 ccm. Durch geeignete Mischung dieser beiden Lösungen konnte Hefewasser mit jeder beliebigen Zuckerkonzentration hergestellt werden. Der Zuckergehalt der Versuchslösungen wurde dann nochmals durch Ermittelung ihres spezifischen Gewichtes bei 15° C mit der Westphalschen Waage unter Verwendung der Extrakt-Tafel von K. Windisch (s. Röttgers, 1926, S. 2033) kontrolliert.

Hefewasser wurde nach der bekannten Vorschrift (s. Will, 1909, S. 445) hergestellt. Mit Zusatz verschiedener Zucker, organischer Säuren oder von Alkohol diente es als Nährflüssigkeit bei verschiedenen Versuchen, so bei denen über die Vergarbarkeit der verschiedenen Zuckerarten, die Assimilation von organischen Säuren, die Widerstandsfähigkeit gegen höhere Konzentrationen organischer Säuren und gegen Alkohol, die Wachstums- und Gärungserscheinungen bei höheren Zuckerkonzentrationen und die Verflüssigung von Gelatine.

Hefewasser hat zwar keine konstante Zusammensetzung, läßt sich aber doch für derartige Versuche mit Vorteil benutzen.

Die Würze wurde ungehopft verwendet. Sie zeigte 12° Balling. Da bei meiner Arbeit Fragen der Weinbereitung im Vordergrund standen, wurde Würze nur in untergeordnetem Maße gebraucht.

Der verwendete Traubenmost war von Riesling-Trauben gekeltert und stammte aus dem Jahre 1930. Er zeigte 70° Öchsle, entsprechend etwa 155 g/l Zucker und enthielt 13,1 g/l Gesamtsäure.

Die Gelatine für die Versuche über die Sporenbildung und für die Strichkulturen wurde zu je 6—7 ccm in Reagenzglaser abgefüllt. Nach vorsichtigem Sterilisieren wurde auf die schräg erstarrte Gelatine für die Sporenversuche je 1 Öse Hefe aufgestrichen. Für die Strichkulturen wurde die Hefe mit einem dünnen geraden Platindraht aufgetragen.

Die chemischen Analysen wurden, wenn nicht anders angegeben, nach den in Deutschland gültigen amtlichen Verfahren ausgeführt (s. von der Heide und Schmitthenner, 1922). Die Gesamtsäure ist immer als Weinsäure, die flüchtige Säure als Essigsäure angegeben.

Da eine Voruntersuchung der zahlreichen von mir isolierten Rassen keine großen Unterschiede zwischen den einzelnen Formen ergab, habe ich für die weiteren Versuche aus jedem weinbautreibenden Lande eine oder mehrere Rassen ausgewählt.

Rasse 1 wurde von Kroemer und Krumbholz von edelreifen Rieslingbeeren aus der Lage Steinberg bei Hattenheim i. Rhg. isoliert und ist in deren Arbeit über osmophile Sproßpilze (1931, S. 364 und 393) bereits kurz erwähnt. Sie wurde mir freundlicherweise zur weiteren Untersuchung überlassen.

Die 17 von mir näher untersuchten Rassen haben folgende Herkunft:

Aus Deutschland: 4 Rassen (Nr. 1, 8, 10, 73). — Aus Luxemburg: 1 Rasse (Nr. 127). — Aus Frankreich: 2 Rassen (Nr. 71, 85). — Aus der Schweiz: 1 Rasse (Nr. 82). — Aus Ungarn: 1 Rasse (Nr. 52). — Aus Rumänien: 1 Rasse (Nr. 115). — Aus Bulgarien: 1 Rasse (Nr. 99). — Aus Rußland: 1 Rasse (Nr. 136). — Aus Portugal: 1 Rasse (Nr. 110). — Aus Spanien: 1 Rasse (Nr. 78). — Aus Italien: 1 Rasse (Nr. 100). — Aus Süd-Afrika: 1 Rasse (Nr. 149). — Aus der Türkei: 1 Rasse (Nr. 154).

Die Zeichnungen wurden unter Verwendung von Okular 4 und Immersion $^1/_{12}$ von Seibert (Vergrößerung 1470) mit Hilfe eines Zeichenapparates angefertigt. Für die Mikroaufnahmen wurde eine „Maccam"-Aufsatzkamera von Leitz-Wetzlar benutzt.

I. Morphologie.

1. Form, Größe und Inhalt der Zellen in Traubensaft.

In 24 Std. alten, bei 25° C herangezüchteten Reagenzglaskulturen in Traubenmost sind die zugespitzten Zellen von Rasse 1 kurz und dick (Abb. 1 a). Messungen an typischen zugespitzten Zellen ergaben Größen von 10,5—11 × 4—4,5 μ. In Kulturen dieses Alters sind die Zellen länglich-ellipsoid bis zugespitzt und fast alle enthalten mehrere kleine runde Vakuolen. Nach 48 und 72 Std. findet man überwiegend zugespitzte Zellen. Nach 6 Tagen trifft man die gleichen Zellformen, aber die meisten Zellen enthalten jetzt an ihrer breitesten Stelle eine große, runde Vakuole und außerdem 2—4 stark lichtbrechende Körperchen.

Die Rassen 8, 52, 71, 73, 82, 85, 99, 100, 110, 115, 127, 136 und 149 zeigten die gleichen Zellformen. Auch hier sind die zugespitzten Zellen kurz und dick, mit verhältnismäßig kurzen Spitzen (Abb. 2 f). Die ellipsoiden Zellen sind im Gegensatz zu denen von Rasse 1 mehr kurz ellipsoid. Die Länge der zugespitzten Zellen schwankt zwischen 6 und 8 μ, ihre Dicke zwischen 3 und 4,5 μ. Diese Rassen sind also wesentlich kleiner als Rasse 1.

Bei allen Rassen variiert nicht nur die Größe der zugespitzten, sondern auch die der ellipsoiden Zellen sehr stark. Es ist deshalb nicht möglich, eine bestimmte Größe für die Zellen einer Rasse anzugeben. Hierauf haben schon frühere Forscher wie Hansen, Will, Meißner und andere aufmerksam gemacht.

Nach 24 Std. ist der weitaus größte Teil der Zellen dieser Rassen zugespitzt. Alle größeren Zellen haben dann schon eine große runde Vakuole, aber nur bei wenigen Zellen sind schon stark lichtbrechende Körperchen vorhanden. Nach 3 Tagen herrschen ellipsoide Zellformen vor. Alle Zellen sind stark vakuolisiert und enthalten einen bis mehrere stark lichtbrechende Körperchen. Nach 6 Tagen sind nur noch sehr wenig zugespitzte Zellen vorhanden. Bei den meisten Rassen befinden sich die Zellen zu dieser Zeit schon im Ruhezustand.

Die Rassen 10, 78 und 154 unterscheiden sich in ihrer Zellform wesentlich von den anderen Rassen. Ihre Zellen sind ausgesprochen länglich und dünn und die Zuspitzungen verhältnismäßig lang (Abb. 2 e). Die Länge der Zellen variiert hier zwischen 12 und 15 μ und die Dicke zwischen 3 und

3,5 μ. In der Beschaffenheit des Protoplasmas gleichen sie den oben beschriebenen Rassen. In 24 Std. alten Kulturen überwiegen die zugespitzten Zellen. Ihr Prozentsatz nimmt dann aber schnell ab, bis nach 72 Std. fast nur noch ellipsoide Zellen vorhanden sind.

Bei keiner Rasse konnte zu irgendeinem Zeitpunkt ihrer Entwicklung Glykogen nachgewiesen werden. Die obenerwähnten stark lichtbrechenden Körperchen treten bei diesen Sproßpilzen regelmäßig nach 48—72 Std. im Protoplasma auf. Sie sind immer gleichmäßig rund und können in Zellen auf festen Nährsubstraten und auf Gipsblöcken 2,5—3 μ im Durchmesser erreichen (Abb. 1 b). In sprossenden Zellen und in jüngeren Kulturen sind

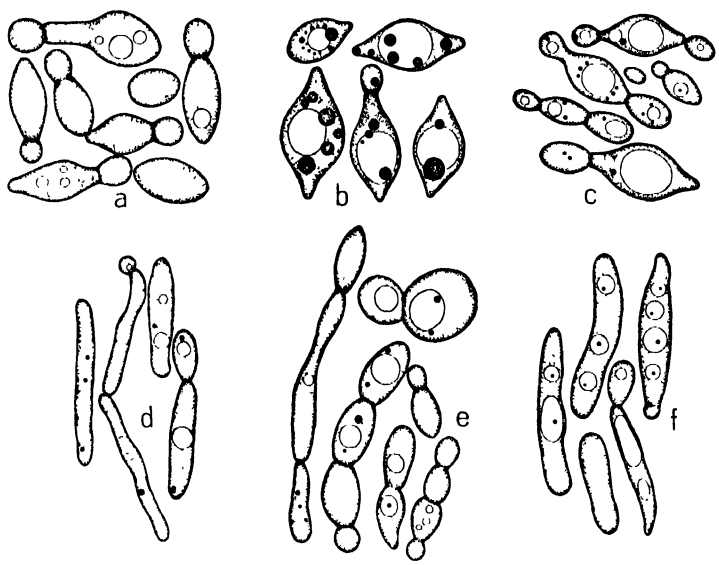


Abb. 1. Rasse 1, vegetative Zellformen. Vergr. 1200. a) In Traubenmost nach 27 Std. bei 25° C. b) Zellen von Gipsblockchen, mit Ölkörperchen, nach 9 Tagen bei 25° C. c) Zellen von Würze-Gelatine nach 8 Tagen bei 20° C. d) Zellen aus den Anhängen von der Unterseite einer Riesenkolonie auf Würze-Gelatine nach 42 Tagen bei 20° C. e) Zellen aus dem Zentrum einer Riesenkolonie auf Würze-Gelatine nach 42 Tagen bei 20° C. f) Zellen aus einer Stichkultur in Wurze-Gelatine nach 26 Tagen bei 20° C.

sie manchmal vereinzelt anzutreffen. In vakuolisierten Zellen liegen sie meistens um die Vakuolen herum (Abb. 1 b und c), sonst sind sie unregelmäßig im Protoplasma verteilt. In 7 Tage alten Kulturen in Reagenzgläsern sind bei Rasse 1 meistens 6– 8 solcher Körperchen in einer Zelle vorhanden. Bei den anderen Rassen ist deren Zahl niemals so groß.

Mit Sudan-Glyzerin färben sich diese Körperchen bei schwacher Erwärmung rötlich-orange, mit Nilblau färben sie sich blau. Bei Behandlung mit Benzol werden sie aufgelöst, verlieren ihre regelmäßige runde Gestalt und verteilen sich im ganzen Protoplasma, das hierdurch stark lichtbrechend wird. Offenbar bestehen diese Körperchen also aus Fett oder Öl, wie schon Will (1916 a, S. 261) angenommen hat.

Das Protoplasma der Zellen in jungen Kulturen ist immer homogen und schwach lichtbrechend. Erst wenn die Zellen älter werden und anfangen, in den Ruhezustand überzugehen, wird es körnig und stärker lichtbrechend.

2. Die Sprossung.

Nach Reess (1870, S. 27) erfolgt die Sprossung der zugespitzten Hefen in folgender Weise: „Die Tochterzellen entstehen als erst knopfförmige, dann kugelig schwellende Ausstülpungen nur an den beiden Polen. Sie wachsen erst fast vollständig zur Größe der Mutterzelle heran und werden dann etwa nach der Art der Konidien von Peronospora infestans rechtwinklig umgestulpt, so daß ihre Längsachse auf diejenige der Mutterzelle zu stehen kommt. Hiernach sproßt entweder die Tochterzelle noch im Verbande mit der Mutterzelle ein- oder zweimal weiter aus, oder sie löst sich sogleich ab und erhält erst nach der Ablösung ihre beiden Spitzchen. Reichzellige Sproßverbände werden nie gebildet." Engel (1872 b, S. 53) kommt auf Grund seiner Versuche zu denselben Folgerungen wie Reess. Hansen (1911, S. 54—56) widerlegt die Resultate von Reess und Engel und sagt in seinen Schlußfolgerungen (S. 56): „Es wird nicht nur eine Art von Sprossen, wie Reess und Engel lehrt, abgeschnurt, sondern regelmäßig zwei, und in dem Entwicklungsgang der ovalen Sprosse macht sich das Gesetz geltend, daß sie, um die typische Gestalt der Art zu erhalten, eine oder mehrere Sprossungen durchmachen müssen."

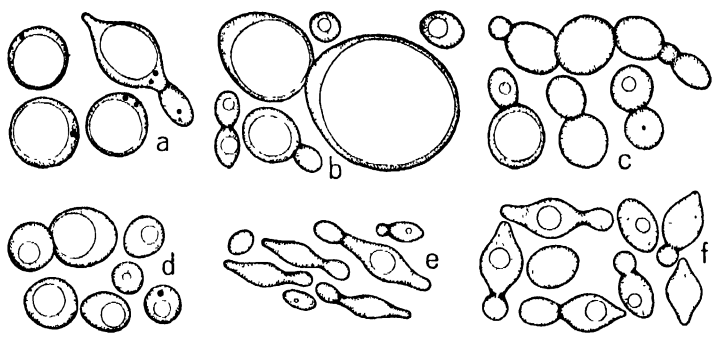


Abb. 2. Vergr. 1200. a) Rasse 8, Riesenzellen aus einer Strichkultur auf Würze-Gelatine nach 8 Tagen bei 20° C. b) Rasse 154, Zellformen in auf ein Zehntel mit Wasser verdünntem Traubenmost nach 3 Tagen bei 25° C. c) Rasse 99, Zellen aus Traubenmost mit Zusatz von 22,3 g/l Alkohol nach 3 Tagen bei 25° C. d) Rasse 127, Zellformen in auf ein Zehntel mit Wasser verdünntem Traubenmost nach 3 Tagen bei 25° C. e) Rasse 154, sprossende Zellen aus Traubenmost nach 27 Std. bei 25° C. f) Rasse 10 desgl.

Meissner (1901, S. 40) nimmt an, daß die ellipsoide Zellform die normale ist und die zugespitzte die Sprossungsform. Die Zuspitzungen sind nach ihm die Anfänge der Sprossung. Weiter beschreibt er das Umknicken der Tochterzellen ausführlich. Muller-Thurgau (1907, S. 137) ist der gleichen Ansicht wie Hansen und nimmt an, daß eine Zelle von zitronenförmiger Gestalt unmittelbar durch Sprossung entstehen kann. Die Meissnersche Auffassung, daß die zugespitzten Zellen Sprossungsformen der ellipsoiden Zellen sind, hält er nicht für richtig. Will (1916 a, S. 239) kommt zu dem Schluß, daß die Sprossung bei den ellipsoiden Zellen auf zweierlei Weise stattfinden kann. Im ersten Fall spitzen sich die Zellen vor der Sprossung zu und an der Spitze entsteht dann der Sproß in der Form einer kugeligen Anschwellung. Im zweiten Falle sproßt die ellipsoide Zelle direkt ohne eine vorhergehende Zuspitzung.

Es besteht also bei den verschiedenen Forschern in dieser Frage bisher noch keine Übereinstimmung.

Meine Versuche über die Sprossung der zugespitzten Hefen wurden in folgender Weise durchgeführt: Aus 8—9 Stunden alten Kulturen in Traubenmost wurde mittels einer Platinöse ein Tröpfchen auf einen sterilen Objektträger gebracht und mit einem sterilen Deckgläschen bedeckt. Die Ränder des Deckgläschens wurden mit Paraffin abgedichtet. Diese Präparate wurden in einen Thermostaten von 25° C gebracht und von Zeit zu Zeit wurde der Sprossungszustand einer Zelle durch Zeichnung festgelegt. Auf diese

Weise habe ich bei 4 verschiedenen Rassen die Sprossung von etwa 80 Zellen verfolgt.

Die zugespitzten Zellen sprossen in folgender Weise: Bei Zellen mit langen Zuspitzungen (Abb. 3 b, 4 a und c, 5 a—e) beobachtet man als erste Andeutung der Sprossung eine kleine Ausstülpung am Ende der Spitze. Diese Ausstülpung vergrößert sich und wird schließlich zu einer runden bis (meist) kurz ellipsoiden Tochterzelle. Nachdem die Tochterzelle ungefähr ein Drittel bis die Hälfte der Größe der Mutterzelle erreicht hat, entsteht an dem zugespitzten Ende der Mutterzelle eine Querwand. Die 2 Zellen stoßen nun mit breiter Basis aneinander. Wenn die Tochterzelle noch etwas größer geworden ist, lösen sich die 2 Zellen voneinander. Da diese Trennung von einer Seite her stattfindet und die Zellmembranen sich von dieser Stelle aus — jedenfalls wegen des inneren osmotischen Druckes — gleichzeitig abrunden, wird die Tochterzelle zur Seite gedrückt und legt sich rechtwinklig zur Längsachse der Mutterzelle.

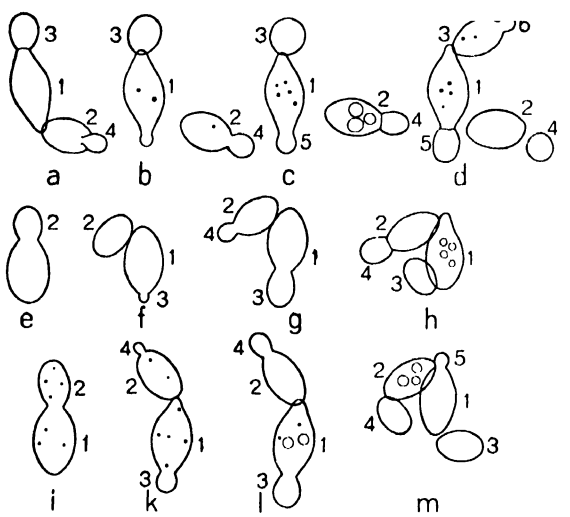


Abb. 3. Rasse 1, Sprossung in Traubenmost bei 25° C. Vergr. 1200. a) 10^{30}; b) 11^{35}; c) 12^{45}; d) 14^{35}; e) 10^{05}; f) 11^{10}; g) 12^{15}; h) 14^{15}; i) 10^{20}; k) 11^{20}; l) 12^{30}; m) 14^{40}.

Die Form der jungen Tochterzelle ist immer ellipsoid. Niemals habe ich eine zugespitzte Tochterzelle beobachten können.

Manchmal bleiben nach der Umknickung Mutter- und Tochterzelle fest aneinander. Beide sprossen nach kürzerer Zeit an den entgegengesetzten Polen, und so können kleine Sproßverbände von 4 Zellen entstehen. Im allgemeinen entstehen die Tochterzellen abwechselnd an den 2 Polen einer Mutterzelle. Es können in dieser Beziehung aber Abweichungen vorkommen. In Abb. 5 a—d sieht man, wie 2 Tochterzellen sich nacheinander am selben Ende der Mutterzelle entwickeln können. Auch kann es vorkommen, daß die Tochterzellen nicht nur an den beiden Polen, sondern auch an anderen Stellen der Mutterzellen entstehen (Abb. 4 k—m).

Bei den ellipsoiden Zellen können die ersten Sprossungsanfänge auf zweierlei Weise entstehen. Meistens bilden sie sich als kleine Ausstülpungen an einem Ende der Mutterzelle (Abb. 3 f, g und k). Diese Ausstülpungen entwickeln sich dann, wie schon vorher beschrieben. Es kann aber auch vorkommen, daß der Beginn der Sprossung sich in einer Zuspitzung der Zelle bemerkbar macht (Abb. 3 h und 4 f). Diese Zuspitzung wird dicker und dicker und nimmt schließlich eine ellipsoide Gestalt an. Wie Abb. 4 f—h zeigt, ist diese Zuspitzung nicht ein vorbereitender Prozeß, wie Will (1916 a, S. 239) meint, sondern direkt die Sprossung selbst, denn nach der Ablösung der Tochterzelle (Abb. 4 h) zeigt die Mutterzelle an der Trennungsstelle keine Zuspitzung mehr.

Unregelmäßig gestaltete Zellen und fadenförmige Zellen aus Hautkulturen können an mehreren Stellen zur selben Zeit sprossen. Auch hier sind die Tochterzellen immer ellipsoid.

Bei ellipsoiden und zitronenförmigen Zellen sproßt die Mutterzelle im allgemeinen erst dann am anderen Ende weiter, wenn die Querwand zwischen Mutter- und Tochterzelle fertig ausgebildet ist.

Bevor die ellipsoiden Zellen sich zuspitzen, müssen sie erst mehrere Male gesproßt haben. Die zugespitzte Form stellt also einen älteren und die ellipsoide einen jüngeren Entwicklungszustand der Zelle dar. Die Tatsache, daß bei der Keimung der Sporen die Tochterzellen immer ellipsoid sind, spricht auch für diese Annahme.

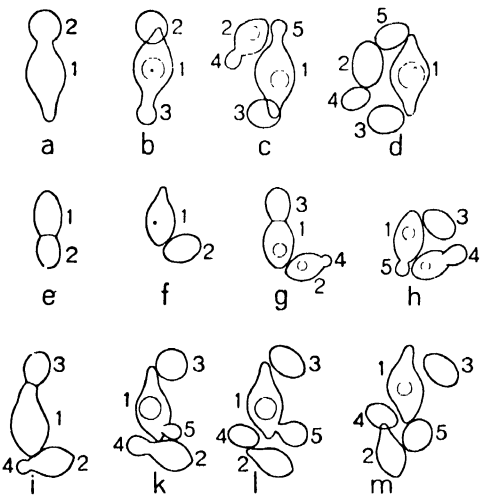


Abb. 4. Rasse 127, Sprossung in Traubenmost bei 25° C. Vergr. 1200. a) 9^{30}; b) 10^{30}; c) 12^{00}; d) 14^{30}; e) 9^{30}; f) 10^{30}; g) 12^{00}; h) 14^{30}; i) 9^{50}; k) 11^{00}; l) 12^{30}; m) 14^{50}.

Schon Hansen (1911, S. 57) hat darauf aufmerksam gemacht, daß am Anfang der Gärung die zitronenförmigen und am Ende die ellipsoiden Zellen überwiegen. Auch in Tröpfchenkulturen läßt sich diese Erscheinung sehr gut beobachten. Die älteren Zellen in der Mitte des Tröpfchens sind fast alle ellipsoid. Hansen meint, daß diese Änderung in der Zellgestalt von Ernährungsbedingungen abhängig ist. Hierunter ist in diesem Falle nicht so sehr der Mangel an irgendeinem Nährstoff, als vielmehr die Einwirkung von einem oder verschiedenen Stoffwechselprodukten wie Alkohol, flüchtigen Säuren und Kohlensäure zu verstehen.

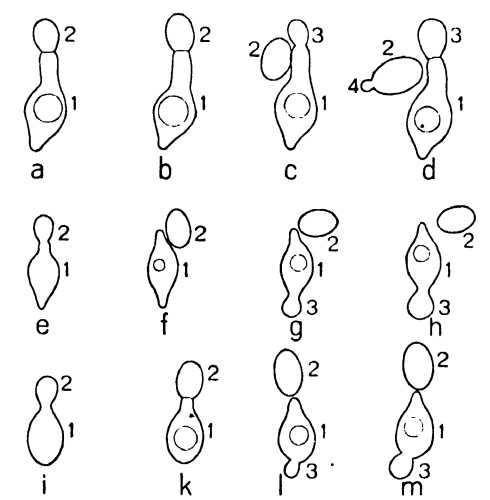


Abb. 5. Rasse 136, Sprossung in Traubenmost bei 25° C. Vergr. 1200. a) 10^{30}; b) 11^{35}; c) 12^{45}; d) 14^{35}; e) 10^{05}; f) 11^{10}; g) 12^{15}; h) 14^{15}; i) 10^{20}; k) 11^{20}; l) 12^{20}; m) 14^{40}.

Zu meinen Versuchen hierüber benutzte ich einen 1929er Traubenmost mit 173 g/l Extrakt und 7,2 g/l Gesamtsäure als Grundlösung.

A. Die Sprossung in mit Kohlensäure gesättigtem Most.

Etwa 1 l Most wurde mit der Weinheferasse Champagne Hautvilliers (Sacch. ellipsoideus) beimpft. Aus dem Luftraum des Gärgefäßes führten 4 Glasröhren, die mit ihren Enden in Reagenzröhrchen in Most tauchten. Sobald der Most in dem Gefäß in Gärung gekommen war, wurden

die 4 Reagenzgläser mit den Rassen 82, 99, 127 und 154 beimpft. Das Impfmaterial enthielt überwiegend zugespitzte Zellen. Als Kontrollen dienten 4 Reagenzröhrchen mit demselben Most ohne Kohlensäurezuleitung. Nach 24 Std., als die Hefen sich schon mäßig stark entwickelt hatten, waren zwischen den beiden Versuchsreihen keine Unterschiede in der Zellform zu beobachten.

B. Die Sprossung in Most bei Zusatz von Essigsäure.

Zu 100 ccm Most wurde 0,2 g Essigsäure zugegeben. Der Most wurde in Mengen von 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt, 3 mal sterilisiert und beimpft. Nach 120 Std. war bei allen 4 Rassen eine schwache Entwicklung wahrzunehmen. Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich die Zellen als ganz normal gestaltet, d. h. es fanden sich meistens zugespitzte Zellen mit wenigen ellipsoiden dazwischen.

C. Die Sprossung in Most bei Zusatz von Alkohol.

Zu dem gleichen Most wurden verschiedene Mengen von Äthylalkohol zugesetzt. Eine Bestimmung ergab in den Versuchsmosten Alkoholmengen von 13,5 und 22,3 g/l. Bei der Konzentration von 13,5 g/l Alkohol hatten sich nach 72 Std. alle 4 Rassen stark entwickelt. Bei den Rassen 82 und 99 waren die Zellen schon vielfach ellipsoid, bei den Rassen 127 und 154 dagegen noch überwiegend zugespitzt. Bei einem Gehalt von 22,3 g/l Alkohol war nach 120 Std. die Entwicklung bei allen Rassen schwach, die Zellform aber immer ellipsoid bis rundlich (Abb. 2 c). Von den 3 untersuchten Stoffwechselprodukten scheint also nur der Alkohol einen Einfluß auf die Zellform zu haben.

D. Die Sprossung in verdünntem Traubenmost.

Ein weiterer Versuch wurde angesetzt, um zu prüfen, ob nicht ein Mangel an assimilierbarem Stickstoff die Zellform beeinflussen kann. Ein Teil Most wurde mit 9 Teilen Wasser verdünnt und mit Glukose und Weinsäure wieder auf den ursprünglichen Zucker- und Säuregehalt gebracht. Nur sein Gehalt an Stickstoffverbindungen und mineralischen Nährstoffen war also auf ein Zehntel verringert. Alle 4 Rassen hatten sich nach 74 Std. in dieser Flüssigkeit schwach entwickelt. Die mikroskopische Untersuchung zeigte überall vorwiegend ellipsoide Zellformen. Diese zeigten aber gegenüber normalen ellipsoiden Zellen gewisse Besonderheiten, insofern als die Zellen von verschiedener Größe und meistens stark vakuolisiert waren (Abb. 2 d). Sehr auffallend waren bei Rasse 154 rundliche Riesenzellen zwischen den kleinen runden Zellen. Bei diesen Riesenzellen war fast der ganze Innenraum von einer großen Vakuole erfüllt (Abb. 2 b).

Meiner Ansicht nach kann die in den Kulturen von zugespitzten Hefen mit dem Alter auftretende Veränderung der Zellform in folgender Weise erklärt werden: Sobald in einer Nährflüssigkeit der für das Wachstum einer Rasse maximale Alkoholgehalt nahezu erreicht ist, sprossen die jungen ellipsoiden Zellen wegen ihrer höheren Empfindlichkeit gegen Alkohol nur noch sehr langsam. Die zitronenförmigen Zellen dagegen vermögen noch weiter su sprossen und erzeugen immer mehr ellipsoide Tochterzellen. Auf diese Weise findet eine dauernde Vermehrung der ellipsoiden Zellen statt, da ja die Sprossung bei den ellipsoiden Zellen so langsam vor sich geht, daß

sich ihre Zellform fast nicht mehr verändert. Vielleicht kann auch der Gehalt an Alkohol einen direkten Einfluß auf die Zellform ausüben.

3. Wachstumserscheinungen in Flüssigkeiten.

A. In Reagenzglaskulturen.

Auf Traubenmost und anderen Flüssigkeiten mit vergärbarem Zucker entsteht 12—14 Tage nach Beendigung der Gärung an der Oberfläche eine Hautvegetation. Bei Rasse 1 geht der Entwicklung dieser Haut eine starke Ringbildung voraus. Die Haut ist hier viel schwächer als bei den anderen Rassen, ihre Zellen unterscheiden sich morphologisch nicht von den normalen vegetativen Zellen. Die zitronenförmigen Zellen können manchmal zu 4—6 in Sproßverbänden vereinigt sein. Bei allen anderen Rassen war von einer Ringbildung nichts zu bemerken. Die Häute entwickelten sich bei ihnen aber viel stärker als bei Rasse 1. Außer den normalen ellipsoiden und zitronenförmigen waren hier auch länglich gestreckte Zellen vorhanden.

Bei allen Rassen waren die Häute sehr zart und zerfielen bei der geringsten Bewegung der Reagenzgläser in kleinere Flöckchen.

Durch die Art des Bodensatzes unterscheidet sich Rasse 1 sehr deutlich von den anderen. Der Bodensatz besteht hier aus einem festen, klebrigen Klumpen, der bei starkem Schütteln in kleinere Klümpchen zerfällt. Die Bodensatzhefe der anderen Rassen kann dagegen leicht in der Flüssigkeit aufgewirbelt werden. Bei den Rassen 8, 10, 71, 73, 78, 99, 100, 115, 127, 136 und 149 ist der Bodensatz ganz „staubig", bei den Rassen 52, 85, 110 und 154 etwas körnig.

B. Die Hautbildung in größeren Flüssigkeitsmengen.

Zu den Versuchen wurden je 80 ccm der verschiedenen Flüssigkeiten in 200 ccm fassende Erlenmeyer-Kölbchen abgefüllt, dreimal sterilisiert und beimpft. Die Kölbchen wurden mit Traubenmost, Birnsaft, Würze, Hefewasser und Hefewasser mit einem Zusatz von 3 g/l Essigsäure angesetzt. Die Versuche mit den letztgenannten 2 Flüssigkeiten wurden nicht in Erlenmeyer-Kölbchen, sondern in Fläschchen, die ebenfalls mit Wattestopfen verschlossen waren (s. Abschnitt über die Assimilation von organischen Säuren, S. 127) ausgeführt.

Die Versuche mit Traubenmost, Birnsaft und Würze wurden bei 3 verschiedenen Temperaturen angestellt, bei 25° C und bei 30° C in Thermostaten und bei 8—10° C in einem Eisschrank, der im Keller stand.

Bei 30° C war nach 6 Wochen nur eine schwache Ringbildung und keine Hautbildung zu beobachten. Bei 8—10° C entstand weder ein Ring noch eine Haut. Bei 25° C waren nach 4 Wochen auf dem Traubenmost und der Würze eine mäßig starke Ringbildung und die Anfänge einer Haut zu beobachten.

Anfänglich bestehen die Ringe aus isolierten Kolonien, die sich an der Flüssigkeitsoberfläche bilden. Diese Kolonien breiten sich dann aus, bis der Ring geschlossen ist. Die Hautbildung beginnt immer etwas später, und zwar in Form von isolierten Inseln, die entweder in der Nähe des Randes oder mehr in der Mitte entstehen können. Die Hautbildung geht also nicht von dem Ring aus. Sowohl Haut wie Ring sind sehr locker und zerfallen leicht in kleine Flöckchen.

a) Auf Traubenmost. Nach 8 Wochen war bei Rasse 1 noch keine Haut sichtbar. Der Ring bestand aus isolierten Kolonien. Bei den anderen Rassen waren nach 12 Wochen mäßig starke Ringe entwickelt. Die Haut bestand aber noch immer aus einzelnen, unregelmäßig gestalteten, über die ganze Oberfläche zerstreuten Inselchen von matt grauweißer Farbe. Die in solchen Häuten vorkommenden Zellformen sind außerordentlich verschieden. Auffallend war, daß abgesehen von ganz geringen Unterschieden, die wohl nur auf den Ort der Probeentnahme zurückzuführen sind, alle

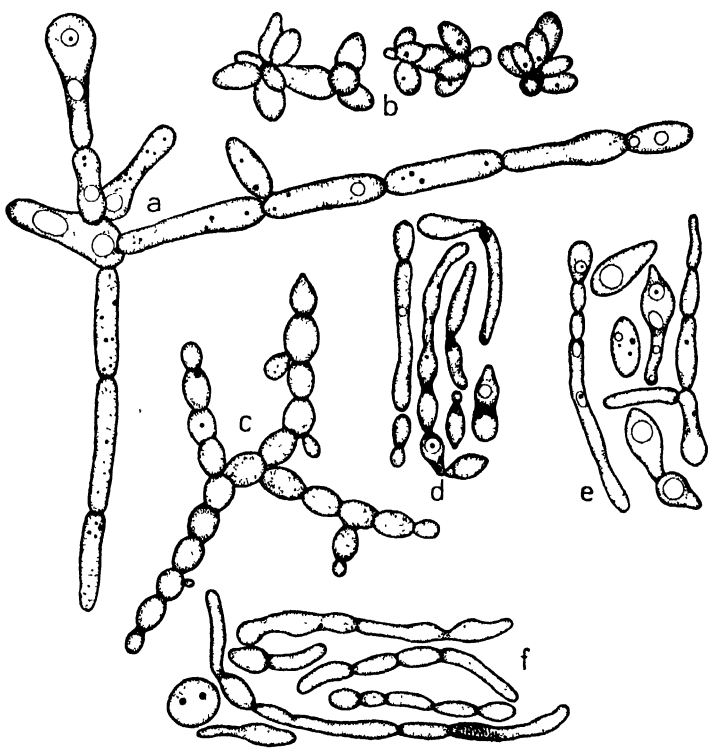


Abb. 6. Zellen aus Hautkulturen bei 25° C. Vergr. 1200. a) Rasse 1, auf Würze nach 12 Wochen. b) Rasse 149, Kronenbildung auf Essigsäure-Hefewasser nach 65 Tagen. c) Rasse 99, auf Hefewasser nach 65 Tagen. d) Rasse 73, auf Traubenmost nach 16 Wochen. e) Rasse 10, auf Wurze nach 12 Wochen. f) Rasse 154, auf Traubenmost nach 16 Wochen.

Rassen in ihren Zellformen große Übereinstimmung zeigten. Am häufigsten waren fast immer sehr langgestreckte, wurstförmige Zellen vorhanden. Dazwischen kamen lang- und kurz-ellipsoide Zellen, zugespitzte Zellen und manchmal auch große runde Zellen vor (Abb. 6 d—f).

b) Auf Würze. Bei Rasse 1 hatte sich nach 8 Wochen ein mäßig starker Ring gebildet. Die Haut bestand aus einzelnen kleinen Inselchen. Im Ring war die Mehrzahl der Zellen ellipsoid oder zugespitzt. Es kamen aber auch viele länglich-ellipsoide bis zylindrische Zellen vor. In den Hautinselchen fanden sich kleine und große ellipsoide Zellen, zugespitzte und zylindrische Zellen und außerdem charakteristische, aus zylindrischen Zellen bestehende verzweigte Sproßverbände (Abb. 6 a).

Bei allen übrigen Rassen war die Entwicklung der Häute ebenso wie die der Ringe viel schwächer als auf Traubenmost. Die Zellen waren meist zitronenförmig und ellipsoid und zeigten keine solche Neigung zur Streckung wie auf Traubenmost.

c) Auf Birnsaft bildeten die Hefen weder Ring noch Haut.

d) Hefewasser und Hefewasser mit einem Zusatz von Essigsäure. Keine Rasse bildete auf diesen Nährflüssigkeiten einen Ring. Rasse 1 entwickelte darauf auch keine Haut. Die anderen Rassen dagegen bildeten hier viel stärkere Häute als auf allen anderen Flüssigkeiten. Auch hier zeigten die Zellformen der verschiedenen Rassen keine Unterschiede. Eine Neigung zur Bildung verzweigter Sproßverbände machte sich deutlich bemerkbar. Die Zellen dieser Sproßverbände unterschieden sich von denen der Rasse 1 auf Würze durch ihre ellipsoide Form (Abb. 6 c). Sehr auffallend war überall eine Art von Kronenbildung, die in der Weise zustande kam, daß an einem oder beiden Polen einer länglichen Zelle mehrere kleinere, länglich-ellipsoide Zellen entstanden (Abb. 6 b). Zitronenförmige und ellipsoide Zellen kamen hier am häufigsten vor.

4. Die Wachstumserscheinungen auf festen Nährböden.

A. Einzell-Kolonien.

Der Wachstumstyp der Einzell-Kolonien wurde in einer 10 proz. Würzegelatine bei 20° C untersucht. Nach 24 Std. waren die Kolonien schon gut entwickelt und zeigten eine typische Maulbeerform (Lindner, 1930, S. 472). Im optischen Durchschnitt waren die Kolonien kurz-ellipsoid bis rund. Ihre Ränder waren ziemlich regelmäßig gestaltet. Ihr Durchmesser schwankte zwischen 25 und 35 μ. Die Zellen lagen dicht beisammen und waren in den Kolonien gleichmäßig verteilt. Zwischen den Kolonien der verschiedenen Rassen waren keine Unterschiede festzustellen. Nach weiteren 24 Std. hatte die Größe der Kolonien noch etwas zugenommen, ihre Form sich aber nicht verändert.

B. Die Riesenkolonien.

Da diese Organismen Hefewasser-Gelatine und Traubenmost-Gelatine verflüssigen (s. S. 139), konnte zu den Beobachtungen über die Riesenkolonien nur Würze-Gelatine verwendet werden. Auf diesem Substrat zeigen — entsprechend den Beobachtungen von Will (1916 a, S. 251) — die verschiedenen Rassen keine großen Unterschiede. In allen Fällen breiten sich die Kolonien auf der Oberfläche der Gelatine aus. Dieser Oberflächenbelag ist im Vergleich zu dem der meisten anderen Saccharomyzeten sehr einfach gestaltet und flach. In die Höhe wachsen die Kolonien nicht. Nach 4—5 Wochen ist ihr zentraler Teil immer etwas eingesunken, ohne daß die Gelatine darunter verflüssigt ist.

Meistens befinden sich an der Unterseite der Kolonien Anhänge, die immer nur schwach entwickelt sind und erst sichtbar werden, wenn der Oberflächenbelag mit Wasser abgespült wird. Sie bestehen aus Zellbündeln, die in die Gelatine hineinwachsen. Sie sind sehr unregelmäßig verteilt und können an allen Stellen der Unterseite vorkommen; am häufigsten und am stärksten entwickelt finden sie sich in der Mitte.

Im Umriß sind die Kolonien ziemlich regelmäßig gestaltet und ihre Ränder sind mehr oder weniger stark gekerbt. Erst nach 7—8 Wochen

tritt Verflüssigung der Gelatine ein, bei Rasse 1 sogar noch viel später. Mit Ausnahme von Rasse 1 zeigen die Kolonien immer eine feuchte, leicht glänzende Oberfläche.

Nach dem allgemeinen Typ ihrer Riesenkolonien können die 17 von mir genauer untersuchten Rassen in 6 Gruppen eingeordnet werden:

Gruppe 1. Oberfläche der Kolonie ziemlich flach, durch radiale Furchen in Sektoren geteilt. Am Rande gelappt: Rasse 1.

Gruppe 2. Oberfläche ganz flach, etwas eingesunken, ohne besondere Merkmale: Rasse 10.

Gruppe 3. Zentrum der Kolonie etwas eingesunken, jedoch mit dem Wall noch deutlich sichtbar. Oberfläche im übrigen ganz flach, nur hier und da mit kleinen runden Erhöhungen. Am Rand mit leichter radialer Streifung: Rasse 136.

Gruppe 4. Kolonie ziemlich einfach gestaltet, Zentrum immer etwas eingesunken und mit charakteristischen warzenförmigen Erhebungen bedeckt. Diese können sehr zahlreich und klein sein oder weniger zahlreich und ziemlich groß. Am Rand mit leichter radialer Streifung: Rassen 52, 71, 82, 99, 115, 149 und 154.

Gruppe 5. Der vorigen Gruppe ähnlich, jedoch von der Mitte ausstrahlend mit einigen radialen Leisten, die meistens sehr schmal sind und nicht bis an den Rand gehen: Rassen 8, 73 und 100.

Gruppe 6. Von der Mitte der Kolonie erstrecken sich 2 oder mehr erhöhte Sektoren bis an den Rand. Deren Oberfläche ist glatt (Rassen 78 und 110) oder mit warzigen Erhöhungen bedeckt (Rassen 85 und 127). Am Rand stehen diese Sektoren meist etwas vor: Rassen 78, 85, 110 und 127.

Mit Ausnahme von Rasse 1 zeigte keine dieser Hefen in den einzelnen Teilen der Riesenkolonien Unterschiede in den Zellformen. In der Mitte finden sich die gleichen Zellformen wie am Rande, überwiegend typische zitronenförmige und ellipsoide, daneben auch noch lang bis sehr lang wurstförmige Zellen. Auch in den Anhängen, die in die Gelatine hineinwachsen, herrschen immer zitronenförmige und ellipsoide Zellen vor. Fast alle Zellen sind vakuolisiert, und sehr auffallend sind die kleinen beweglichen Körperchen in den Vakuolen. Bei einzelnen Rassen trifft man auch in der Mitte der Kolonien Zellen mit Sporen (Abb. 7 c).

Wie aus Abb. 7 a und b ersichtlich ist, sind die Kolonien von Rasse 1 auf Würze-Gelatine und auf Most-Gelatine voneinander recht verschieden.

C. Strich- und Stichkulturen.

Die Versuche wurden in der üblichen Weise mit derselben Würze-Gelatine angesetzt, wie sie auch für die Riesenkolonien verwendet wurde. Die Versuchstemperatur betrug 25° C. Die Strichkultur von Rasse 1 zeigte bereits nach 7 Tagen stärkere Entwicklung als die der anderen Rassen und eine beiderseits von der Mittellinie ausstrahlende Querfaltung. Nach 24 Tagen waren die Strichkulturen dieser Rasse von denen der anderen nur noch durch kräftigere Entwicklung verschieden. Die Zellen waren fast alle zitronenförmig oder ellipsoid (Abb. 1 c). Die Strichkulturen der anderen Rassen unterschieden sich von denen der Rasse 1 dadurch, daß sie an der Oberfläche immer glatt und eben waren, abgesehen von der eigentlichen Impfstelle, die etwas vertieft und beiderseits von einer leichten Erhöhung begleitet war. Die Ränder zeigten fast keine Kerbung. Nach 24 Tagen begann sich die Gelatine zu verflüssigen.

Bei allen Rassen überwogen ellipsoide Zellen. Dazwischen fanden sich wenig zitronenförmige und wurstförmige Zellen. Auffallend waren auch runde und zitronenförmige, stark vakuolisierte Riesenzellen (Abb. 2 a).

Die Stichkulturen der verschiedenen Rassen ließen nach 7 Tagen noch keine Unterschiede erkennen. In den oberen Schichten der Gelatine entwickelten sich alle Rassen stark. Von hier aus nahm die Entwicklung mit zunehmender Tiefe ab: bei einer Tiefe von 3,5 cm war kein Wachstum mehr wahrzunehmen. Auch nach 26 Tagen hatten sich die Organismen noch nicht tiefer im Stichkanal entwickelt. Rasse 1 zeigte abweichend von den anderen Rassen feine, von den Kolonien im Stichkanal pinselig ausstrahlende Fortsätze.

Bei Rasse 1 waren die Zellen aus dem Stichkanal überwiegend zylindrisch, mit wenigen, lang-ellipsoiden Zellen dazwischen. Alle längeren Zellen enthielten mehrere Vakuolen, in denen sich kleine bewegliche Körperchen befanden (Abb. 1 f). Diese Zellen zeigten viel Übereinstimmung mit denen aus den Anhängen der Riesenkolonien. Bei den übrigen Rassen waren die Zellen länglich bis kurz ellipsoid.

D. Wachstum bei gleichmäßiger Verteilung der Zellen in Gelatine.

Die Beobachtungen wurden gleichzeitig und an demselben Material gemacht wie die über die Verflüssigung der Gelatine (s. S. 139). Die Entwicklung der Organismen war nach 4 Tagen bei neutraler und bei saurer Reaktion fast gleich.

Bei Rasse 1 trat Wachstum in der Saccharose und Maltose-Gelatine nur in den obersten Schichten der Gelatine ein. Bis auf 2 mm Tiefe lagen die sehr kleinen Kolonien ganz dicht zusammen. In tieferen Schichten war makroskopisch keine Entwicklung mehr wahrzunehmen. In der Glukose-Gelatine dagegen hatten sich die Kolonien bis ganz unten hin entwickelt. Die Gelatine war hier auch schon von Kohlensäureblasen zerrissen, bei saurer Reaktion stärker als bei neutraler. Verflüssigung der Gelatine war noch nicht eingetreten.

Die anderen Rassen entwickelten sich bei neutraler Reaktion schwächer als bei saurer. Aber auch hier war in der Saccharose- und Maltose-Gelatine das Wachstum noch schwächer als in der mit Glukose. Bei Zusatz von Saccharose und Maltose waren die Kolonien sichtbar bis zu einer Tiefe von 2 mm unter der Oberfläche. In der sauren Glukose-Gelatine entwickelten sich die Organismen noch in den tiefsten Schichten der Gelatine, bei neutraler Reaktion nur bis zu einer Tiefe von 3—3,5 cm. In der Glukose-Gelatine war bei beiden Reaktionen die Gelatine von Kohlensäureblasen zerrissen. In der sauren Glukose-Gelatine trat die Verflüssigung der Gelatine zuerst ein.

In der Gelatine mit alkalischer Reaktion hatten sich die Kolonien überall viel schwächer entwickelt. Bei Rasse 1 waren sie in der Saccharose- und Maltose-Gelatine bis auf eine Tiefe von 2 mm unter der Oberfläche entstanden. Sie waren in diesem Substrat aber viel kleiner als bei neutraler und saurer Reaktion. In der Glukose-Gelatine war mäßige Entwicklung bis auf 1 cm Tiefe eingetreten. Von hier aus wurde sie immer schwächer, bis in den unteren Teilen der Gelatine überhaupt keine Kolonien mehr sichtbar waren. Die Gelatine war in diesen Fällen noch nicht verflüssigt. Kohlensäureblasen traten meistens unter den Zonen starken Wachstums auf.

Die anderen Rassen entwickelten sich in der Saccharose- und Maltosegelatine nur an der Oberfläche. In der Glukose-Gelatine war eine Entwicklung bis unten hin sichtbar, allerdings verhältnismäßig schwach. Kohlensäureblasen traten auf. Eine Verflüssigung der Gelatine war nach 4 Tagen noch nicht eingetreten.

Zwischen den verschiedenen Rassen, einschließlich Rasse 1, waren bei diesem Versuch fast keine morphologischen Unterschiede festzustellen. Rasse 1 entwickelte sich immer etwas stärker als die anderen, auch in den sauerstoffarmen Gelatineschichten. Physiologisch unterscheidet sie sich dadurch, daß sie die Gelatine nicht so schnell verflüssigt wie die anderen Rassen. Die Entwicklung dieser Organismen ist nicht nur von der Sauerstoffspannung in der Gelatine, sondern auch von der Art der zugesetzten Zucker abhängig. In einer Gelatine, die einen für eine Hefe vergärbaren Zucker enthält, ist deren Sauerstoffbedürfnis viel kleiner, als wenn der zugesetzte Zucker unvergärbar ist.

5. Sporenbildung und Sporenkeimung.

Beijerinck (1921, Teil 3, S. 56) war der erste, der bei einer zugespitzten Hefe Sporenbildung beobachtet hat. Im Jahre 1894 berichtete er, daß man in der Luft und auf süßen Fruchten mitunter Apiculatus-Formen antrifft, die vereinzelt Aski mit je 4—6 Sporen zu bilden vermögen. Bis dahin war man immer der Meinung gewesen, daß diese Sproßpilze asporogen sind, da die Versuche aller fruheren Forscher, z. B. von Reess und Hansen, diese Sproßpilze zur Sporenbildung zu bringen, stets ergebnislos verlaufen waren. Im Jahre 1901 veroffentlichte Lindner (1901, S. 398) Abbildungen von „Apiculatus-Hefen" mit sporenähnlichen Gebilden. Es gelang ihm aber nicht, diese Gebilde zur Keimung zu bringen. 2 Jahre später (Lindner, 1903, S. 505) berichtete er, daß er wiederum Sporenbildung, und zwar bei einer von Robinia-Blüten isolierten Apiculatus-Rasse gefunden habe. Jeder Askus enthielt nur 1 Spore, die eine deutliche Membran erkennen ließ. Er konnte diese Sporen zwar nicht zur Keimung bringen, war aber fest überzeugt, daß es sich dabei wirklich um Sporen handelte. Im Jahre 1905 fand Rohling (1905, S. 15) bei einer der von ihm untersuchten Rassen dieser Organismen Sporenbildung auf einem Gipsblöckchen. Auch wollte er die Keimung einer Spore in Pferdemistdekokt mit Zusatz von 5% Glukose beobachtet haben. Nach der Beschreibung, die er für die Keimung auf S. 15 seiner Arbeit gibt, müßte man annehmen, daß die Spore noch innerhalb der Mutterzelle ohne vorhergehende Promyzelbildung direkt auszusprossen angefangen hat. Müller-Thurgau (1907, S. 316) konnte bei einer Nachprüfung die Beobachtungen Röhlings nicht bestätigen. Auf Grund sehr ausgedehnter Versuche kam Zikes (1911, S. 144) zu der Schlußfolgerung, daß die Apiculatus-Hefen asporogen seien. Er konnte bei ihnen unter keinen Umständen eine Sporenbildung nachweisen. Klocker (1912, S. 384) fand daraufhin in Gartenerde aus der Umgebung von Valby eine „Apiculatus-Hefe", die reichlich Sporen bildete, und zwar 2 Sporen im Askus. Diese Form stimmte mit der von Beijerinck schon früher aufgefundenen Art weitgehend uberein. Dagegen gelang es Klöcker trotz aller seiner Versuche nicht, die von Hansen isolierte Apiculatus-Hefe zur Sporenbildung zu bringen. Will (1916a, S. 292) konnte ebenfalls bei seinen 2 Arten keine Sporenbildung erzielen. Man hat deshalb allgemein diese Organismen für asporogen gehalten. In neuester Zeit ist es aber Kufferath (1929, S. 210) gelungen, bei der Hansenschen Rasse auf alkalischem Würze-Agar eine sehr geringe Sporenbildung zu erzielen. Er konnte die Sporen aber nur nach vorausgehender Färbung nachweisen.

Unter diesen Umständen schien es unbedingt notwendig, die Frage der Sporenbildung bei den Apiculatus-Hefen von neuem nachzuprüfen.

Zunächst wurde mit verschiedenen Substraten eine größere Versuchsreihe angesetzt, um zu prüfen, ob und gegebenenfalls unter welchen Bedingungen die Apiculatus-Hefen Sporen zu bilden vermögen. Zu diesen Versuchen wurden die folgenden Substrate verwendet:

1. Gorodkowa-Agar in der üblichen Weise hergestellt.

2. Alkalischer Würze-Agar nach Kufferath (1929, S. 197). Dieser Nährboden wurde genau nach der Vorschrift von Kufferath hergestellt und es wurde mit folgenden Alkalitätsstufen gearbeitet: 3, 5, 13, 23 und 33 ccm normale Natronlauge in 250 ccm Agar.

3. Erdextrakt-Gelatine. Das Erdextrakt wurde folgendermaßen hergestellt: 1000—1500 g Gartenerde wurde 1 Std. lang in 1 l Wasser gekocht und dann stehen gelassen. Nach wenigen Tagen hatte sich die Erde ganz abgesetzt, und die fast klare Flüssigkeit wurde abgegossen und filtriert. Mit dem Filtrat wurde dann eine 15 proz. Gelatine hergestellt.

4. Gipsblöckchen.

Die Prüfung auf Sporenbildung erfolgte nunmehr in folgender Weise:

Die verschiedenen Rassen wurden in Traubenmost herangezüchtet. Um nur junge und guternährte Zellen fur die Versuche zur Verfügung zu haben, wurden die Kulturen 24 Std. nach der ersten Beimpfung nochmals in frischen Most abgeimpft. Aus diesem Most wurde nach 24—26 Std. mit einer Platinose etwas auf die Oberfläche der schrag erstarrten Gelatine- oder Agar-Nährboden übertragen. Zur Aussaat auf Gipsblöckchen konnten nur Kulturen verwendet werden, die mindestens 3 Tage alt waren. Erst nach dieser Zeit hatte sich eine genügende Menge Bodensatzhefe gebildet. Die beimpften Kulturen wurden im Thermostat bei 25° C gehalten.

Auf Gorodkowa-Agar und Erdextrakt-Gelatine waren nach 8 Tagen noch keine Sporen gebildet. Auf dem letztgenannten Substrat entwickelten sich die zugespitzten Hefen überhaupt nur sehr schwach. Auf alkalischem Würze-Agar nach Kufferath war bei allen Alkalitätsgraden Sporenbildung zu beobachten. Jedoch wurden bei den Alkalitätsstufen 23 und 33 die meisten Sporen festgestellt. Rasse 1 bildete überhaupt nur bei diesen 2 Konzentrationen Sporen.

Auf Gipsblöckchen war nach 5 Tagen bei allen Rassen mit Ausnahme von Rasse 1 reichliche Sporenbildung zu beobachten. Da sie auf diesem Substrat weitaus am besten vor sich ging, habe ich zu meinen weiteren Versuchen über die Sporenbildung nur Gipsblöckchen benutzt.

3 Monate später hatte Rasse 1 schon die Fähigkeit zur Sporenbildung verloren. Jedenfalls war das darauf zurückzuführen, daß sie schon 1 Jahr früher als die anderen Rassen isoliert worden war.

In Zellen aus Hautkulturen konnte ich niemals eine Sporenbildung beobachten. Bei Rasse 8 ließen sich aber in der Mitte von Riesenkolonien auf Würze-Gelatine sowie in einer Strichkultur auf demselben Substrat Zellen mit Sporen nachweisen (Abb. 7 c und f).

Da die Rassen 73, 127, 136 und 154 bei den Vorversuchen besonders reichlich sporulierten, wurden alle weiteren Versuche über die Sporenbildung und die Sporenkeimung nur mit diesen 4 Rassen durchgeführt. Bei einer Temperatur von 25° C waren die ersten Sporenanlagen bei den Rassen 73, 127 und 136 nach 26—28 Std. sichtbar. Bei Rasse 154 waren nach 30 Std. meistens noch keine Sporenanlagen zu erkennen.

Wenn eine Zelle zur Sporenbildung übergeht, wird zunächst ihr Protoplasma etwas stärker lichtbrechend und an den beiden Enden treten mehrere kleine Körnchen auf. Allmählich wird dann an dem einen Pol der Zelle ein kleines rundliches oder stumpf-elliptisches, stärker lichtbrechendes Körperchen von 0,5—0,7 μ Durchmesser sichtbar. Wahrscheinlich ist dieses mit dem in gefärbten Präparaten sichtbaren Zellkern identisch. Bald darauf bildet sich um das Körperchen eine durch stärkeres Lichtbrechungsvermögen vom Plasma deutlich abgesetzte Wand aus. Man sieht jetzt also ein zentrales

Körperchen umgeben von einer scheinbar normalen Plasmazone, die nach außen durch eine Membran abgegrenzt ist. Später wird das zentrale Körperchen wieder unsichtbar und es treten in manchen Sporen ein oder mehrere Ölkörperchen auf (Abb. 7 g). Die Sporenmembran wird immer dicker und der ganze Inhalt der Spore homogen und stark lichtbrechend. Nach 36 Std. waren bei allen 4 Rassen die Sporen fertig ausgebildet.

Während der letzten Entwicklungsstufe der Spore entsteht am anderen Ende der Mutterzelle eine kleine runde Vakuole. Nach 3 Tagen ist die Zelle schon stark vakuolisiert, aber die Spore liegt noch immer in Plasma eingebettet, das außer der Spore noch mehrere kleine, runde Ölkörperchen umschließt (Abb. 7). Nach 6—8 Tagen ist das Plasma verschwunden; die Zellen enthalten dann nur noch die Sporen und die Ölkörperchen.

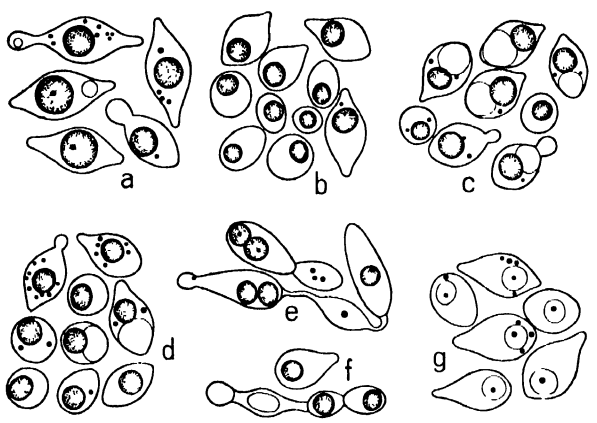


Abb. 7. Sporenbildung. Vergr. 1200. a) Rasse 1, auf Würze-Agar nach Kufferath nach 8 Tagen bei 25° C. b) Rasse 127, auf Gipsblöckchen nach 3 Tagen bei 25° C. c) Rasse 136, desgl. d) Rasse 154, desgl. e) Rasse 8, aus dem Zentrum einer Riesenkolonie auf Wurze-Gelatine nach 26 Tagen bei 20° C. f) Rasse 8, aus einer Strichkultur auf Würze-Gelatine nach 26 Tagen bei 25° C. g) Rasse 136, Sporenanlagen aus Gipsblockkulturen nach 31 Std. bei 25° C.

Während der Sporenbildung erleidet auch die Form der Mutterzelle wesentliche Veränderungen. Am Anfang haben diese Zellen meistens noch ihre typische zugespitzte Gestalt. Mit zunehmender Reife geht diese Form jedoch immer mehr verloren. Schließlich sind sie meist rundlich bis kurzellipsoid oder kurz und dick zugespitzt. Die Asci von Rasse 1 behalten stets ihre zugespitzte Form. Dort, wo 2 Zellen noch aneinander hängen, entsteht die Spore fast immer an dem Ende der Mutterzelle, das nicht in Berührung mit der Tochterzelle steht. Fähig zur Sporenbildung sind nicht nur die zugespitzten, sondern auch die größeren ellipsoiden Zellen. Ganz ausnahmsweise können auch 2 Sporen in einer Mutterzelle entstehen (Abb. 7 e). Die Sporen liegen dann frei nebeneinander.

Die Sporen besitzen nur eine Membran. Diese ist verhältnismäßig dick und stark lichtbrechend. Ihre Oberfläche ist glatt. Meist sind die Sporen rundlich; sie können aber auch kurz-ellipsoid sein (Taf. 1 a, b, c und d). Bei Rasse 1 sind sie fast immer rund und haben einen Durchmesser von 3—3,5, nur ausnahmsweise 4 μ. Bei den anderen Rassen dagegen beträgt der Durchmesser der rundlichen Sporen nur 2,5—3,2 μ.

Bei den Saccharomyceten teilt sich der Kern kurz bevor eine Zelle zur Sporenbildung übergeht (s. Tischler, 1921/22, S. 273). Nach Kohl (1908, S. 187) kann es vorkommen, daß man in ein- oder mehrsporigen Asci neben den Sporen noch einen freien Zellkern antrifft.

Um zu sehen, wie sich der Kern der von mir beschriebenen einsporigen zugespitzten Hefen bei der Sporenbildung verhält, wurden etwa 24 Std. nach Ansetzung

der Sporenkulturen, als erst bei wenigen Zellen die ersten Sporenanlagen sichtbar waren, Kernfärbungen vorgenommen. Die Zellen wurden hierzu in destilliertem Wasser gut auf sorgfaltig entfetteten Objektträgern aufgeschwemmt und dann 1½ Std. in einen Thermostaten bei 28° C gestellt, wodurch sie antrockneten. Hiernach wurden sie während 4 Std. in Pikrin-Schwefelsäure fixiert (s. Behrens 1998, S. 65), in einer Lösung von 2,5 g Eisenalaun in 100 ccm Wasser gebeizt, nochmals abgespült und mit Hämatoxylin gefärbt. Die Präparate wurden dann 18 Std. in eine 0,5proz. Lösung von Hämatoxylin in destilliertem Wasser gelegt, die mit Hilfe einer alkoholischen Hämatoxylin-Stammlösung hergestellt wurde. Schließlich wurde 1—3 Min. in einer 0,75proz. Schwefelsäure-Lösung differenziert und nach Abspülen in 33proz. Kaliumazetat-Lösung eingeschlossen. Form und Größe der Zellen blieben bei dieser Behandlung sehr gut erhalten.

Bei den kleineren und größeren nicht sporenbildenden Zellen zeigt der Kern in so behandelten Präparaten sehr verschiedene Formen. Bald erscheint er amöboid oder sternförmig, bald ganz unregelmäßig, bald halbmondförmig, manchmal auch rundlich. Auch die Lage der Kernes in der Zelle wechselt bei solchen Zellen sehr. Manchmal liegt er als rundliches Körperchen der Zellwand an, manchmal mehr halbmondförmig an einer Vakuole, meistens aber als unregelmäßig oder sternförmig gestaltetes Gebilde in der Mitte der Zelle. Sobald sich aber eine Zelle anschickt, zur Sporenbildung überzugehen, nimmt der Kern eine ganz regelmäßige rundliche Form an und wandert an den einen Pol der Zelle. Hier bildet sich dann die Sporenmembran um den Kern aus. In jungen Sporen ist der Kern ziemlich groß und mißt etwa 1,5—1,7 μ im Durchmesser. In keinem Fall konnte ich außer dem Sporenkern einen anderen freien Kern im Askus wahrnehmen. Eine Kernteilung geht der Sporenbildung hier also nicht voraus (Fig. 1, Taf. 2). Hier kann man bei verschiedenen Zellen nicht nur die runden Sporenkerne, sondern auch die Membran der Sporen erkennen.

Die von mir als Sporen angesprochenen Gebilde habe ich in zahlreichen Fällen zur Keimung bringen können, außerdem aber konnte ich in ihnen auch das Vorhandensein von Zellkernen nachweisen. Die Sporennatur der von mir beobachteten Körper kann deshalb wohl gar keinem Zweifel unterliegen.

Im Laufe der Zeit machte sich bei mehreren Rassen eine merkliche Abschwächung der Fähigkeit zur Sporenbildung bemerkbar. Diese Tatsache und das schon erwähnte Verhalten der Rasse 1 scheinen mir darauf hinzudeuten, daß diese Sproßpilze bei Kultur im Laboratorium die Fähigkeit zur Sporenbildung ziemlich rasch verlieren.

Höhere Temperaturen scheinen den Verlust dieser Fähigkeit stark zu beschleunigen. So fand ich bei der Prüfung von Kulturen, die ungefähr 6 Monate lang im Laboratorium gestanden hatten, kaum noch Zellen mit Sporen, auch bei den ursprünglich reichlich sporenbildenden Rassen 73, 127, 136 und 154. Ging ich aber von Kulturen aus, die im Keller bei erheblich niedrigerer Temperatur gestanden hatten, so zeigten die genannten Rassen noch bei etwa 90% der Zellen Sporenbildung.

Im Hinblick auf die Ergebnisse Beijerincks (1898, S. 657 und 721) versuchte ich das Vermögen zur Sporenbildung bei den im Laboratorium aufbewahrten Kulturen der Rassen 136 und 154 zu regenerieren. Durch 3 stünd. Erhitzen auf 52° C wurden die vegetativen Zellen abgetötet. Danach wurden die Sporen zur Keimung gebracht und bei ihren Nachkommen wiederum das Sporenbildungsvermögen untersucht. Statt zuhatte es aber abgenommen. Es waren kaum noch Sporen zu finden. Ich wiederholte deshalb den Versuch mit Kulturen, die im Keller bei einer Tem-

peratur von 8—10° C aufbewahrt worden waren. Auch hier konnte ich jedesmal nach dem Erhitzen eine Verminderung der Zahl der sporulierenden Zellen beobachten. Nach 2 maligem Erhitzen bildeten bei beiden Rassen nur noch etwa 50% der Zellen Sporen.

Die Ursache, warum so viele Forscher ohne Erfolg versucht haben Apiculatus-Hefen zur Sporenbildung zu bringen, liegt meines Erachtens darin, daß die Kulturen, die sie benutzten, schon zu lange im Laboratorium gehalten worden waren. Sowohl Klöcker wie Will stellten ihre Versuche mit Rassen an, die schon mehrere Jahre in ihren Laboratorien vermehrt worden waren. Zikes gibt nicht an, wie alt die Kulturen waren, mit denen er seine Versuche durchführte; aber er sagt auch nicht, daß sie frisch isoliert waren.

Lindner dagegen konnte bei 2 frisch isolierten Rassen Sporenbildung nachweisen. Aus einer von ihm wiedergegebenen Abbildung (1903, S. 505, und 1930, S. 535) geht deutlich hervor, daß dieser Forscher die Sporenbildung bei Apiculatus-Hefen bereits beobachtet hat. Dagegen wirkt eine ältere Abbildung aus dem Jahre 1901 (S. 398) weniger überzeugend. Wenn man die Sporenbildung bei diesen Organismen beobachten will, muß man eben stets von ganz frisch isolierten Kulturen ausgehen. Auch ohne besondere Färbungen, wie Kufferath (1929, S. 180) sie empfiehlt, kann man dann eine reichliche Sporenbildung nachweisen.

Von mir wurden 81 aus den verschiedensten Ländern stammende Rassen zugespitzter Hefen untersucht. Sie erwiesen sich sämtlich, wenn auch in sehr verschiedenem Grade, zur Sporenbildung befähigt.

Man kann annehmen, daß die für die Sporenbildung optimale Temperatur nahe bei 25° C liegt; denn bei dieser Temperatur werden die Sporen innerhalb von 30—36 Stunden gebildet. Um einige Anhaltspunkte für die Lage der Minimal- und Maximaltemperaturen zu erhalten, wurde die Sporenbildung bei den genauer untersuchten 17 Rassen auch bei 16 und 30° C verfolgt.

Bei 16° konnte ich nach 12 Tagen sehr vereinzelt Sporen bei Rasse 52 feststellen. Bei allen anderen Rassen waren bei dieser Temperatur auch nach 24 Tagen keine Sporen zu sehen. Bei 25° C entsprach nach 36 Std. der Prozentsatz der Sporen enthaltenden Zellen etwa den in Tab. 2 angegebenen Werten.

Tabelle 2.

Rasse Nr.	1	8	10	52	71	73	78	82	85
Prozentsatz d. Sporen enthaltenden Zellen	—[1])	5	15	20	10	80	10	10	5

Rasse Nr.	99	100	110	115	127	136	149	154
Prozentsatz der Sporen enthaltenden Zellen .	15	1,5	0,5	10	75	90	1	95

[1]) Siehe S. 113.

Bei 30° C konnte auch nach 12 Tagen bei keiner dieser Rassen Sporenbildung nachgewiesen werden. Die Zellen sahen zu dieser Zeit schon so krank und geschwächt aus, daß sie nicht mehr fähig sein konnten, Sporen zu erzeugen. Während also das Optimum für die Sporenbildung dieser Organismen wahrscheinlich bei etwa 25° C liegt, ist das Maximum noch unter 30° C, das Minimum nahe bei 16° C, meist aber darüber, zu suchen.

Diese Befunde stimmen nicht mit denen von Kufferath (1929, S. 210 ff.) überein. Dieser Forscher fand bei Temperaturen von 25—28° C merkwürdigerweise überhaupt keine Sporen, während er als optimale Temperatur 10—15° C angibt und anderseits auch noch bei 30° C eine ziemlich reichliche Sporenbildung (sporogénèse assez fréquente) beobachtete. Ein solches Verhalten würde allem, was bisher über die Sporenbildung der Saccharomyceten, insbesondere über die Kardinalpunkte (Minimum, Optimum und Maximum) bekannt geworden ist, widersprechen. Man darf wohl annehmen, daß bei den Untersuchungen Kufferaths irgendein Irrtum unterlaufen ist.

Um die Keimung der Sporen zu beobachten, wurden die folgenden Nährmedien verwendet:

1. Eine 10 proz. Würze-Gelatine. Zellen mit Sporen wurden in die verflüssigte Gelatine übertragen; hiermit wurden dann Gelatine-Adhäsionskulturen in hohlgeschliffenen Objektträgern und in Böttchers feuchter Kammer angelegt. Nach 5 Tagen war in der Gelatine noch keine Keimung zu beobachten. 2. Neutrales Hefewasser mit 5% Glukose. 3. Neutrales Hefewasser mit 5% Maltose. 4. Erdextrakt mit 5% Glukose. 5. Apfelmost. 6. Traubenmost.

Die Sporen enthaltenden Zellen wurden in Tropfen dieser Flüssigkeiten auf sterilen Objektträgern verteilt und unter einer Glasglocke, die mit Wasser abgeschlossen war, in einen Thermostat bei 25° C gebracht. Unter diesen Bedingungen keimten die Sporen am besten in Traubenmost, etwas schwächer in Apfelmost, sehr schwach in Hefewasser und gar nicht in Erdextrakt.

In einer anderen Versuchsreihe wurden die sporenhaltigen Zellen in Traubenmost, Apfelmost und Würze in Reagenzgläser gebracht. Obwohl die vegetativen Zellen üppig sproßten, blieben die Sporen unverändert. Anscheinend können also die Sporen nur bei Anwesenheit einer gewissen Menge Sauerstoff keimen. Alle weiteren Keimungsversuche wurden deshalb in Traubenmost auf Objektträgern durchgeführt. Unterschiede in der Art der Sporenkeimung bei den verschiedenen Rassen konnte ich nicht feststellen.

Unter den genannten Bedingungen beginnt die Keimung der Sporen in der Regel nach 9—10 Std. Die Sporen schwellen zunächst stark an, wobei ihr Inhalt immer schwächer lichtbrechend wird (Abb. 8 b, h und o). Manchmal quellen die Sporen so stark an, daß man bei kleineren Asci die Mutterzellwand kaum noch von der Sporenmembran unterscheiden kann. Die Wand der Mutterzelle wird dabei immer dünner und zerfällt schließlich in kleine Teilchen. Die Sporen und die neben ihnen liegenden Fetttröpfchen werden dadurch frei. Die Sporen schwellen nun weiter an, ihr Plasma wird immer weniger lichtbrechend und es wird darin ein Fetttröpfchen und manchmal auch eine kleine Vakuole sichtbar (Abb. 8 c, i und p).

Die Sporenmembran scheint dabei zunächst nicht dünner zu werden. Schließlich keimt die Spore zu einem dünnwandigen, vakuolenhaltigen Pro-

myzel aus, und es entstehen typische keulenförmige oder birnförmige Gebilde (Abb. 8 e, l und r).

Wenn ein Promyzel eine Länge von etwa 3—5 μ erreicht hat, beginnt es zu sprossen und bildet durch Sprossung auf breiter Basis an seinem Ende eine ellipsoide Tochterzelle (Abb. 8 f und m).

Wenn ein Askus 2 Sporen enthält, bleiben sie beide meist aneinander kleben. Ihre Promyzelien werden aber ganz getrennt ausgebildet (Abb. 8 k).

Die Sporenkeimung verläuft also bei diesen Rassen anders als Röhling (1905, S. 15) es bei der einen von ihm beobachteten keimenden Spore von Apiculatus-Hefe gefunden hat. Niemals habe ich ein direktes Aussprossen der Sporen beobachten können, wie er es beschreibt.

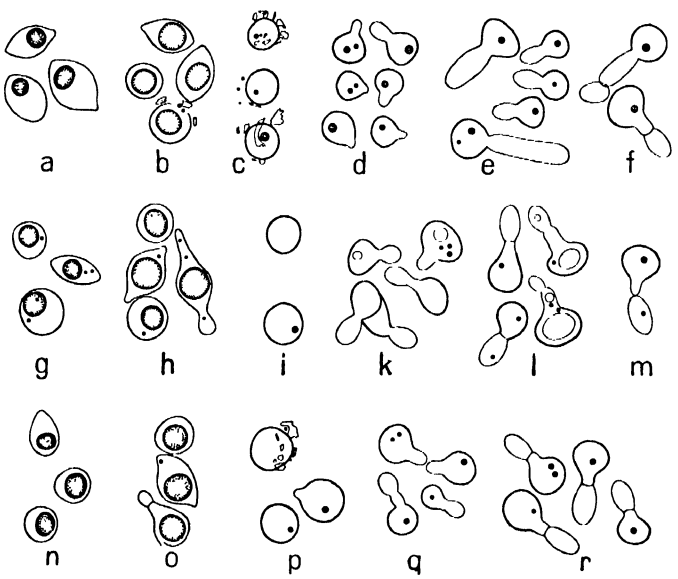


Abb. 8. Sporenkeimung in Traubenmost bei 25° C. Vergr. 1500. a bis f Rasse 127, g bis m Rasse 136 und n bis r Rasse 154.

II. Physiologie.

1. Die Vergärbarkeit der verschiedenen Zuckerarten.

Über die Vergärbarkeit der verschiedenen Zuckerarten durch Apiculatus-Hefen liegen in der Literatur schon viele Angaben vor.

Hansen (1911, S. 61) stellte fest, daß die von ihm untersuchte Rasse von Saccharomyces apiculatus Saccharose nicht invertiert und demnach auch nicht vergärt. Nach Amthor (1888 a, S. 64) konnte er dasselbe für Maltose und Laktose nachweisen. Nach Fischer und Thierfelder (1894, S. 231) fand Cremer, daß Saccharomyces apiculatus Traubenzucker, d-Mannose und d-Fruktose vergärt, und Voigt, daß dieser Pilz keine d-Galaktose vergären kann. Die genannten 2 Forscher konnten diese Ergebnisse bestätigen.

Lindner (1900, S. 713) gibt an, daß eine der 4 von ihm geprüften Rassen d-Galaktose und d-Mannose schwach vergären konnte. Die anderen 3 vergären weder d-Galaktose noch d-Mannose, alle aber Glukose und Fruktose. Klöcker (1913, S. 293—304) fand, daß von 17 von ihm aus verschiedenen Gegenden von Europa, Afrika und Asien isolierten Pseudosaccharomyces-Arten 9 Invertase enthielten. Die Invertase liegt hier aber als Endoenzym vor und wird erst durch Zerquetschen der Zellen frei. Es gelang ihm nach Zusatz solcher zerquetschten Zellen zu einer Saccharose-Lösung die Bildung von Invertzucker nachzuweisen. Auf S. 305 gibt er an, daß 11 von diesen

17 Arten in unverletztem Zustand kleine Mengen von Maltose vergären können. Weiter vergären sie Glukose, Fruktose und Mannose, aber nicht d-Galaktose oder Laktose. Die von Will (1916 a, S. 269) untersuchten Rassen vergären Glukose und Fruktose aber nicht d-Galaktose, Maltose, Laktose, Saccharose und Raffinose. Weitere Literaturangaben finden sich bei Will (1916 a, S. 257).

Wie man aus diesen wenigen Angaben sieht, haben alle Autoren, die sich damit beschäftigt haben, übereinstimmend gefunden, daß von diesen Hefen d-Glukose, d-Fruktose und d-Mannose vergoren werden. Hiermit stimmen meine eigenen Befunde überein.

Um festzustellen, welche Zucker die von mir untersuchten zugespitzten Hefen vergären, wurde zunächst die Lindnersche Kleingärmethode benutzt. Verwendet wurden hierzu nur die reinsten von der Firma Merck in Darmstadt erhältlichen Zuckerpräparate und neutrales Hefewasser. Es ergab sich hierbei, daß die 17 genauer untersuchten Rassen nur Glukose, Fruktose und Mannose vergären; dagegen nicht Arabinose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Laktose, Raffinose, Dextrin und Inulin.

Die Dauer der Kleingärversuche betrug 24 Std. Daß das Lindnersche Verfahren zu unsicheren Ergebnissen führt, wenn in den Lösungen eine nur sehr schwache Gärung eintritt, und daß erst durch größere Versuche von längerer Dauer festgestellt werden kann, ob ein Zucker wirklich unvergärbar ist, haben schon verschiedene Forscher hervorgehoben, so Will, Guilliermond, Davis und Klöcker (s. Klöcker 1924, S. 211).

Weitere Versuche mit Saccharose, Maltose, Laktose und Galaktose wurden deshalb in folgender Weise durchgeführt:

Hefewasser wurde unter Verwendung von Lackmuspapier als Indikator mit $^1/_{12}$ N.Alkalilauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. Zu 100 ccm davon wurden 5 g des zu prüfenden Zuckers zugesetzt. Die so hergestellten Lösungen der Disaccharide wurden mittels eines kleinen Entkeimungsfilters der Seitz-Werke (Kreuznach i. Rhl.) entkeimt und in sterile, 10 cm lange Reagenzgläser abgefüllt. Die Galaktose-Lösung wurde nach dem Abfüllen in strömendem Dampf dreimal diskontinuierlich sterilisiert. In die Wattebausche der Reagenzgläser wurden S-förmige gebogene Glasröhrchen eingesteckt, die mit einem Tropfchen Glyzerin abgeschlossen waren und als Gärspunde dienen sollten. Nach der Beimpfung wurde die Watte etwas heruntergedruckt und oben mit Paraffin abgedichtet.

Der verhältnismäßig kleine Luftraum über der Flüssigkeit und der dichte Abschluß gegen die Außenluft verhinderte eine Hautbildung, die einen Verbrauch von Alkohol durch die Hefen während des Versuches hätte zur Folge haben können. Als Impfmaterial dienten 3 Tage alte Kulturen in Traubenmost, also in einer Invertzucker enthaltenden Flüssigkeit herangezüchtete Hefen. Die Versuchstemperatur betrug hier wie in den nachfolgenden Versuchen 25° C. Nach 3—4 Wochen wurde der Alkoholgehalt in den Flüssigkeiten nach dem Mikroverfahren von Ripper und Wohack (1917, S. 102) bestimmt. Die erhaltenen Zahlenwerte sind in Tab. 3 angegeben.

Die Hefen hatten sich in allen Fällen gut entwickelt, ohne daß während der Versuchsdauer eine Spur von Gärung zu beobachten gewesen wäre. Aus der Tabelle geht hervor, daß der Säuregehalt der Flüssigkeiten während der Dauer des Versuchs erheblich zugenommen hatte. Es ist deshalb nicht ganz ausgeschlossen, daß eine schwache Inversion der Disaccharide und eine Vergärung des invertierten Zuckers stattgefunden hat. Auf diese Weise läßt sich die Entstehung der geringen, bei der Analyse aufgefundenen Alkoholmengen erklären. Jedenfalls aber kann man daraus nicht auf eine

Vergärbarkeit dieser verschiedenen Zucker schließen. Die untersuchten Apiculatus-Hefen vergären also weder Galaktose noch Saccharose, Maltose oder Laktose.

Tabelle 3.

Rasse Nr.	Hefewasser + 5% Saccharose nach 19 Tagen		Hefewasser + 5% Maltose, nach 28 Tagen		Hefewasser + 5% Laktose, nach 22 Tagen	Hefewasser + 5% Galaktose nach 19 Tagen,	
	Alkohol g/l	ph-Wert	Alkohol g/l	ph-Wert	Alkohol g/l	Alkohol g/l	ph-Wert [1]
Kontrolle	0,20	7,2	0,20	7,2	0,9	0,60	7,0
1	1,20	5,0	0,50	6,7	1,15	0,60	6,9
8	1,40	5,8	0,40	6,3	1,60	0,90	6,3
10	0,30	5,4	0,70	6,9	1,20	1,30	6,7
52	1,20	5,0	1,00	5,0	1,80	0,30	6,8
71	0,30	4,9	0,65	6,9	1,20	0,80	6,4
73	1,20	5,0	0,40	7,1	1,50	0,40	6,0
78	0,35	5,0	0,40	7,1	1,80	0,60	6,5
82	0,85	5,1	0,30	6,9	2,05	1,30	6,4
85	0,60	5,0	0,25	6,6	1,10	0,50	6,3
99	2,90	5,0	0,20	6,3	1,00	0,45	6,0
100	1,30	5,2	0,50	7,2	1,65	1,05	6,2
110	1,90	5,6	0,05	6,8	1,10	0,05	6,2
115	0,80	5,4	0,10	7,0	0,95	0,50	6,7
127	1,90	5,4	0,30	7,1	1,40	0,55	6,6
136	1,20	5,4	0,40	7,1	1,75	0,49	6,6
149	0,80	5,8	0,10	6,9	1,60	1,20	6,6
154	0,65	5,1	0,70	6,9	1,55	1,00	6,5

Die Unvergärbarkeit des Monosaccharids Galaktose durch diese Hefen kann nach Fischer und Thierfelder (1894, S. 236) durch die Annahme erklärt werden, daß der geometrische Bau ihrer Moleküle schon zu viel von dem des Traubenzuckers abweicht.

2. Die Gärungserscheinungen.

Eine von Hansen (1911, S. 60) untersuchte Apiculatus-Hefe bildete bei 4—7° C nur 0,625 und bei 20—27° C 1 Vol.-% Alkohol. Auch alle späteren Forscher wie Amthor, Müller-Thurgau, Röhling, Klöcker, Will usw. haben die Tatsache bestätigt, daß diese Sproßpilze nur wenig Alkohol zu erzeugen vermögen.

Für meine Versuche habe ich, da die von mir untersuchten Rassen fast alle von Weinbeeren isoliert worden waren, in der Hauptsache Traubenmost verwendet. Kroemer und Krumbholz (1930, S. 364) fanden, daß zugespitzte Hefen sich auch in hoch konzentrierten Mosten gut entwickeln können. Ich hielt es deshalb für wichtig, die von mir untersuchten Rassen auch in dieser Hinsicht zu prüfen.

A. Die Gärung in ungelüftetem Traubenmost.

Der Versuchsmost wurde durch Mischung von 4 Teilen 1930er Traubenmost mit einem Teil Leitungswasser gewonnen. Er zeigte 57° Öchsle und enthielt 11,2 g/l Gesamtsäure sowie 0,07 g/l flüchtige Säure. Nach dem

[1] Die ph-Werte wurden bei Abschluß des Versuches mit dem Wulffschen Folien-Kolorimeter bestimmt.

Sterilisieren wurden die Versuchsflaschen mit je einer Öse aus 3 Tage alten Mostkulturen beimpft. Nach Beendigung der Gärung zeigten die Weine die in Tab. 4 angegebene Zusammensetzung.

Tabelle 4.

Rasse Nr.	Alkohol g/l	Gesamtsäure g/l	Flüchtige Säure g/l	Verhältnis g flüchtige Säure : 100 g Alkohol	Untersucht nach Wochen
Kontrolle	—	11,2	0,07	—	—
1	44,9	11,8	0,5	1,3	6
8	5,0	12,2	0,47	9,3	6
10	5,0	12,3	0,45	9,0	6
52	14,6	10,9	0,48	3,3	4
71	8,9	12,1	0,42	4,7	6
73	9,3	11,1	0,49	5,2	4
78	10,3	11,2	0,44	4,2	6
82	7,1	11,1	0,51	7,1	6
85	14,6	11,2	0,52	3,5	6
99	7,7	10,9	0,50	6,5	6
100	11,4	11,5	0,52	4,5	6
110	10,3	11,7	0,54	5,2	6
115	11,9	12,1	0,48	4,0	6
127	11,9	12,2	0,55	4,6	6
136	4,4	11,7	0,51	11,6	6
149	4,4	11,1	0,45	10,2	6
154	7,7	11,8	0,51	6,6	6

Die Gärung verlief langsam und schleppend, nur bei Rasse 1 etwas lebhafter (siehe auch Abb. 9—11). Wie aus der Tab. 4 zu ersehen ist, bildete diese Rasse auch viel mehr Alkohol. Während sie 44,9 g/l Alkohol erzeugte, wurden von der nächst gärkräftigen Rasse Nr. 85 nur 14,6 g/l Alkohol gebildet. Wie man sieht, steht Rasse 1 in dieser Hinsicht ganz für sich. Die anderen Rassen zeigen zwar auch Unterschiede in ihrem Gärvermögen, doch sind diese verhältnismäßig gering. Die Gesamtsäure der Weine ist in einigen Fällen der der Moste fast gleich, bei anderen Rassen hat sie während der Gärung zugenommen und bei anderen abgenommen. Worauf diese Unregelmäßigkeiten beruhen, muß dahingestellt bleiben. Daß hier keine Assimilation der organischen Säuren des Mostes stattgefunden haben kann. geht aus einem späteren Versuch hervor.

Die ausgegorenen Moste zeigten nach Beendigung der Gärung einen verhältnismäßig hohen Gehalt an flüchtigen Säuren. Trotz ihrer geringen Gärkraft bilden diese Sproßpilze nicht unbeträchtliche Mengen von diesen Säuren. Bei Rasse 1 ist der Gehalt des vergorenen Mostes an flüchtiger Säure am höchsten, da aber diese Rasse auch viel Alkohol erzeugt, ist das Verhältnis zwischen Alkohol und flüchtiger Säure (1,3) wesentlich niedriger als bei allen anderen Rassen. Es besteht auch kein Zusammenhang zwischen dem Gärvermögen der verschiedenen Rassen und ihrer Fähigkeit, flüchtige Säure zu erzeugen. Meistens bilden die gärkräftigsten Rassen auch die höchste Menge an flüchtiger Säure, aber daß dies nicht immer der Fall ist, beweist die gärschwache Rasse 136.

Es mag hier noch erwähnt werden, daß die Moste nach Abschluß der Gärung in allen Fällen einen unangenehmen esterartigen Geruch besaßen. Auch in einem Versuch, in dem kalt entkeimter Traubenmost vergoren

wurde, zeigte sich dieser unangenehme Geruch und Geschmack. Schon Amthor (1888, S. 360) hat dies beobachtet. Er spricht aber von einem „angenehm obstartigen Bukett". Nach ihm haben noch andere Forscher wie Müller-Thurgau, Meißner, Röhling, Will usw. hierauf hingewiesen.

B. Die Gärung in gelüftetem Traubenmost.

Der Versuchsmost wurde wiederum durch Mischung von 4 Teilen 1930er Traubenmost mit einem Teil Leitungswasser hergestellt. Er zeigte 58° Öchsle und enthielt 11 g/l Gesamtsäure und 0,07 g/l flüchtige Säure. Die Flaschen wurden mit je einer Öse aus 3 Tage alten Mostkulturen beimpft. Nach 3 Wochen war die Gärung beendet. Die nach 6 Wochen vorgenommene chemische Untersuchung ergab die in Tab. 5 zusammengestellten Werte.

Tabelle 5.

Rasse Nr.	Alkohol g/l	Gesamtsäure g/l	Fluchtige Säure g/l	Verhältnis g fluchtige Säure : 100 g Alkohol
Kontrolle	—	11,0	0,07	—
1	52,8	11,4	0,49	0,9
8	27,4	11,9	0,79	2,9
10	24,0	11,7	0,89	3,7
52	28,5	12,0	0,63	2,2
71	28,5	11,5	0,62	2,2
73	26,4	12,0	0,72	2,9
78	28,5	11,7	0,67	2,3
82	21,2	11,5	0,94	4,4
85	27,4	11,8	0,70	2,5
99	30,3	11,8	0,70	2,3
100	26,4	11,1	0,84	3,4
110	21,9	11,7	0,63	2,2
115	39,0	11,6	0,71	1,8
127	23,5	12,1	0,68	2,9
136	22,9	12,0	0,78	3,4
149	21,8	12,1	0,66	3,2
154	17,9	12,1	0,62	3,5

In allen Versuchsflaschen hatte sich ein viel stärkerer Bodensatz gebildet als im Versuch ohne Lüftung. Die Lebensbedingungen müssen hier also für die Vermehrung der verschiedenen Rassen günstiger gewesen sein. Der unangenehme Geruch und Geschmack nach Estern trat weniger stark hervor. Wie besonders aus den graphischen Darstellungen (Abb. 9—11) ersichtlich ist, war auch die Gärung viel stärker und lebhafter als in den ungelüfteten Mosten. Selbst bei der schwach gärenden Rasse 10 kann man während der ersten 8 Tage noch eine deutliche Periode der Hauptgärung wahrnehmen. Die Lüftung begünstigt also nicht nur die Vermehrungs-, sondern auch die Gärtätigkeit der zugespitzten Hefen in nennenswertem Maße.

Nach Korff (1898, S. 626) kann sich der Einfluß von Lüftung und Sauerstoffentzug bei den 3 von ihm geprüften Hefen sehr verschieden äußern, und oft vermag dieser Einfluß gegenteilige Wirkungen hervorzubringen, je nachdem die eine Hefe mehr Sauerstoff bedarf als die andere oder mehr oder weniger empfindlich gegen Sauerstoff ist.

Bei allen von mir geprüften Rassen von zugespitzten Hefen hatte die Lüftung nicht nur das Vermehrungsvermögen und die Gärungsenergie erhöht, sondern auch das Gärvermögen erheblich gesteigert. Der Einfluß der Lüftung auf die Vermehrungsenergie konnte aus dem beschriebenen Versuch nicht entnommen werden. Diese günstigen Wirkungen dürfen aber nicht nur auf die Zufuhr von Luft zurückgeführt werden, sondern zweifellos spielt hier auch die Entfernung der Kohlensäure eine Rolle. Seiß (1907, S. 389) hat bei den von ihr untersuchten Rassen von zugespitzten Hefen gefunden, daß „das Wachstum, die Vermehrungsenergie dieser Hefen . . . durch das Vorhandensein von Kohlensäure ganz beträchtlich reduziert" wird.

Auch in dieser Beziehung unterscheidet sich Rasse 1 wesentlich von den anderen Rassen, denn ihr Gärvermögen wird durch Lüften nicht so stark gesteigert. Sie ist also weniger empfindlich gegen Kohlensäure oder hat kein so großes Sauerstoffbedürfnis. In den gelüfteten Mosten bildet diese Rasse weniger flüchtige Säure als ohne Lüftung. Gerade umgekehrt verhalten sich alle anderen Rassen. Bei ihnen scheint eine Erhöhung der Gärungsenergie und des Gärvermögens auch eine Zunahme der gebildeten flüchtigen Säuren zur Folge zu haben.

Wenn auch die Lüftung die Bildung von flüchtigen Säuren erhöht, so wird doch die Alkoholerzeugung viel stärker gefördert, und deshalb ist das Verhältnis zwischen flüchtigen Säuren und Alkohol bei Lüftung viel niedriger als ohne Lüftung.

C. Die Vergärung von Glukose und Fruktose.

In den Kleingärversuchen nach Lindner vergären diese Hefen nur Glukose, Fruktose und Mannose, also nur Monosaccharide. Ob die beiden ersten, in Trauben- und Obstmosten vorkommenden Zuckerarten gleich stark angegriffen werden, und welche Gärprodukte daraus entstehen, war aus den Kleingärversuchen nicht zu ersehen. Manchmal trat die Gärung in den Glukose-Lösungen eher ein als in denen mit Fruktose. Ein besonderer Versuch sollte hierüber näheren Aufschluß geben. Er wurde mit den Rassen 1 und 52 unter Verwendung der reinsten von Merck in Darmstadt erhältlichen Präparate von Glukose und Fruktose durchgeführt. Als Gärflüssigkeit diente Hefewasser mit einem Zusatz von etwa 90 g/l Glukose bzw. Fruktose. Während der Gärung wurden die Versuchsflaschen, die je 500 ccm Flüssigkeit enthielten, nicht gelüftet. Sie wurden mit einer Öse aus 3 Tage alten Kulturen in Traubenmost beimpft.

Tabelle 6.

Gewichtsabnahme nach Tagen	Gewichts-Verluste der gärenden Moste in g/l			
	Rasse 1		Rasse 52	
	Glukose	Fruktose	Glukose	Fruktose
2	1,2	1,8	1,2	1,6
4	19,4	19,2	15,2	14,2
6	34,2	31,2	27,0	24,8
8	40,4	37,6	35,0	32,2
10	42,2	40,4	40,6	36,2
12	42,6	41,8	42,0	39,6
14	42,6	41,8	42,0	40,0
52	42,6	41,9	42,0	40,0

Wie aus Tab. 6 ersichtlich ist, ergaben sich bei keiner der beiden Rassen wesentliche Unterschiede in der Vergärung dieser 2 Zuckerarten. Nach 12 Tagen bereits war die Gärung beendet; sie verlief hier also viel schneller als in Traubenmost. Nach 52 Tagen wurden die vergorenen Flüssigkeiten untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 7 zusammengestellt.

Tabelle 7.

	Zucker-art	Alkohol g/l	Gesamt-säure g/l	Flüchtige Säure g/l	Verhältnis g flüchtige Säure : 100 g Alkohol
Kontrolle	Glukose	—	0,6	0,1	—
	Fruktose	—	0,6	0,15	—
Rasse 1	Glukose	38,4	1,6	0,41	0,9
	Fruktose	40,0	1,6	0,45	0,9
Rasse 52	Glukose	36,7	2,0	0,69	1,6
	Fruktose	39,6	1,9	0,69	1,5

Wie aus Tab. 7 zu ersehen ist, war der Zucker in beiden Flüssigkeiten von Rasse 1 vollständig vergoren worden. Bei höherem Zuckergehalt wäre sicher noch mehr Alkohol gebildet worden. Die mit Rasse 52 beimpften Proben enthielten dagegen noch etwas unvergorenen Zucker. Auch hinsichtlich der Gärprodukte ergaben sich für die beiden Zuckerarten in keinem Falle wesentliche Unterschiede.

Sehr auffallend ist, daß Rasse 52 in Traubenmost ohne Lüftung nur 14,6 g/l Alkohol zu bilden vermag (s. Tab. 5, S. 122), während sie in Hefewasser unter sonst gleichen Bedingungen bis 39,6 g/l Alkohol erzeugt. Auch in anderen Versuchen konnte ich immer wieder feststellen, daß die zugespitzten Hefen in Hefewasser gegen Alkohol nicht so empfindlich sind als in Most.

Der Gehalt an Gesamtsäure nahm in allen 4 Versuchsflüssigkeiten zu. Auch nach Abzug der flüchtigen Säure ergibt sich noch eine erhebliche Zunahme an nicht flüchtiger Säure. Die Vermutung, daß diese Säurezunahme auf einer Bildung von Bernsteinsäure beruhen könnte, bestätigte sich aber nicht. Bei der Analyse der vergorenen Flüssigkeiten konnte in keinem einzigen Fall auch nur eine Spur von Bernsteinsäure nachgewiesen werden. Diese beiden Hefen erzeugen unter den angegebenen Bedingungen also keine Bernsteinsäure. Es scheint deshalb, daß die beobachtete Zunahme im Säuregehalt auf eine Veränderung des Hefewassers während der Gärung zurückgeführt werden kann. Ich halte es für nicht ganz ausgeschlossen, daß die im Hefewasser vorhandenen Säureamide enzymatisch in ihre Komponenten aufgespalten werden können, wobei Ammoniak verbraucht und die Säure frei wird.

D. Das Wachstum in Flüssigkeiten von höherem Zuckergehalt.

Bei diesem und dem folgenden Versuch wurde Hefewasser mit verschiedenen Konzentrationen von Invertzucker als Nährlösung verwendet. Die Lösungen wurden zu je 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt und sterilisiert. Als Impfmaterial dienten 3 Tage alte, in Traubenmost mit etwa 15 g Zucker in 100 ccm herangezüchtete Hefen. Die Versuchstemperatur betrug 25° C.

Versuch 1. Das spezifische Gewicht des gezuckerten Hefewassers bei 15° C betrug 1,1546. Die Lösung enthielt also 406 g/l Extrakt, was einem Zuckergehalt von 397 g/l entspricht. 3 Tage nach der Beimpfung war bei allen Rassen starkes Wachstum und lebhafte Gärung zu beobachten.

Versuch 2. Spezifisches Gewicht des gezuckerten Hefewassers bei 15° C = 1,1986. Extraktgehalt = 524 g/l, Zuckergehalt etwa 515 g/l.

6 Tage nach der Beimpfung hatte sich Rasse 1 unter lebhaften Garungserscheinungen gut entwickelt. Alle anderen Rassen dagegen hatten sich zu dieser Zeit nur schwach vermehrt und eine nur geringe Gärung hervorgerufen. 2 Tage später wurden sie nochmals untersucht; die Gärung war jetzt auch bei den anderen Rassen erheblich stärker, aber bei weitem noch nicht so lebhaft wie bei Rasse 1. Alle Hefen hatten sich hier nur in den obersten Flüssigkeitsschichten entwickelt. Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich die Zellen als normal, zeigten jedoch vorwiegend gedrungene Formen.

Versuch 3. Spezifisches Gewicht des gezuckerten Hefewassers bei 15° C = 1,2173. Extraktgehalt = 573,8 g/l, Zuckergehalt etwa 564 g/l.

Nach 10 Tagen hatte sich Rasse 1 stark entwickelt; der Most zeigte lebhafte Gärung. Die anderen Rassen dagegen waren nur schwach entwickelt und die mit ihnen beimpften Moste zeigten äußerst schwache Gärungserscheinungen. Nach 17 Tagen bot Rasse 1 noch das gleiche Bild. Die anderen Rassen hatten sich inzwischen starker vermehrt, aber die Gärung war immer noch sehr schwach. Auch hier entwickelten sich die Organismen nur in den oberen Flussigkeitsschichten. Die mikroskopische Untersuchung ergab dasselbe Bild wie in Versuch 2.

Versuch 4. Spezifisches Gewicht des gezuckerten Hefewassers bei 15° C = 1,2365. Extraktgehalt = 624,6 g/l, Zuckergehalt etwa 615 g/l. Nach 6 Tagen hatte sich Rasse 1 mäßig stark entwickelt und eine leichte Garung hervorgerufen. Bei den Rassen 71, 110, 127 und 149 war ebenfalls ein sehr schwaches Wachstum, aber keine Gärungserscheinungen mehr wahrzunehmen. Nach 11 Tagen waren alle mit Ausnahme der Rassen 10, 73, 99, 100, 115 und 136 makroskopisch sichtbar gewachsen, aber außer Rasse 1 zeigte sich bei keiner eine merkliche Gärung. Auch nach 15 Tagen war hierin keine Veränderung eingetreten.

In diesem Versuch unterscheidet sich Rasse 1 von allen anderen deutlich durch ihre größere Unempfindlichkeit gegen hohe Zuckerkonzentrationen. Während die widerstandsfähigsten von diesen sich kaum noch in einer Lösung mit 615 g Zucker im Liter vermehren können, wächst Rasse 1 darin noch ziemlich gut und ruft auch noch eine Gärung hervor.

In normalen Mosten mittlerer Zusammensetzung sind alle diese Sproßpilze untergärig, vor allem auch Rasse 1 in ausgesprochenem Maße. Während der Gärung bildet sie einen Bodensatz und die darüberstehende Flüssigkeit bleibt fast ganz klar. In hochkonzentrierten Lösungen entwickelten sich diese Hefen dagegen nur in den oberen Flüssigkeitsschichten. Nach Kroemer und Krumbholz (1931, S. 371) haben schon Laurent, R. von der Heide, Zschocke und Satava diese Erscheinung beobachtet. Die erstgenannten beiden Autoren konnten sie sowohl bei ihren osmophilen als auch bei gewöhnlichen Hefen feststellen. Aus ihren Versuchen geht hervor, daß nicht einfach das hohe spezifische Gewicht solcher Flüssigkeiten die Zellen anfangs in den oberen Schichten hält, sondern daß die Hefen sich in derartigen Flüssigkeiten mit hohen osmotischen Werten am besten in den oberen sauerstoffreichen Schichten entwickeln können.

f) Die Gärung in hochkonzentrierten Flüssigkeiten mit und ohne Lüftung.

Die mit Hefewasser und Invertzucker hergestellten Versuchsflüssigkeiten zeigten folgende Zusammensetzung:

1. Spez. Gew. = 1,1712, Extrakt = 448,8 g/l, Zucker 440 g/l.
2. „ „ = 1,1922, „ = 505,3 g/l, „ 495 g/l.
3. „ „ = 1,2274, „ = 600,1 g/l, „ 591 g/l.

Die Gärversuche wurden in der üblichen Weise durchgeführt. Auch das Impfen und das Lüften erfolgte wie bei den früheren Versuchen.

In allen Versuchsreihen war die Hauptgärung nach 17 Tagen beendet, in den gelüfteten Flaschen sogar schon nach 10 Tagen. Die Gärung setzte in den gelüfteten Flaschen früher ein als in den nicht gelüfteten, was ebenfalls dafür spricht, daß bei Anwesenheit von Luft die Zellen sich schneller vermehren können. In den ungelüfteten Flüssigkeiten verlief die Gärung viel langsamer (s. Tab. 8). Bei Rasse 1 war noch eine deutliche Hauptgärung zu beobachten, die ungefähr nach 16 Tagen aufhörte. Bei den anderen Rassen dagegen war die Gärung von Anfang an sehr schleppend, so daß man hier gar nicht von einer Hauptgärung sprechen kann. Nach 52 Tagen wurden die Versuchsflüssigkeiten untersucht. Es ergaben sich die in Tab. 9 zusammengestellten Werte.

Auch bei diesem Versuch ist eine Zunahme im Gesamtsäure-Gehalt des Hefewassers während der Gärung zu beobachten. Rasse 1 bildete bei Konzentration 1 in beiden Versuchsreihen mehr Alkohol als bei den entsprechenden Versuchen in Traubenmost. Bei den Konzentrationen 2 und 3 war die erzeugte Alkoholmenge in beiden Fällen geringer als in Most.

Tabelle 8.

Rasse Nr.	Extraktgehalt der Versuchslösung g/100 ccm	Versuchsdauer Tage	Gewichtsverlust an Kohlensäure g/l	
			gelüftet	ungelüftet
1	44,88	17	57,5	45,0
	44,88	45	62,5	51,0
	50,53	17	47,3	36,7
	50,53	45	51,7	48,2
	60,01	17	36,7	23,2
	60,01	45	45,2	35,2
10	44,88	17	26,7	14,0
	44,88	45	36,7	21,5
	50,53	17	22,5	11,7
	50,53	45	32,5	19,0
	60,01	17	—	—
	60,01	45	—	—
115	44,88	17	23,2	14,5
	44,88	45	36,2	25,2
	50,53	17	17,7	12,7
	50,53	45	27,5	20,4

Tabelle 9.

Rasse Nr.	g Extrakt in 100 ccm	Mit Lüftung			Ohne Lüftung		
		Alkohol g/l	Gesamtsäure g/l	Flüchtige Säure g/l	Alkohol g/l	Gesamtsäure g/l	Flüchtige Säure g/l
Kontrolle	—	—	—	—	—	0,6	0,1
1	44,88	57,8	2,1	0,74	52,2	2,0	0,85
	50,53	52,2	2,1	0,74	43,7	2,2	0,93
	60,01	39,0	2,2	0,91	29,1	2,2	0,94
10	44,88	29,1	2,4	1,14	17,3	2,2	0,93
	50,53	27,5	2,3	1,03	13,7	2,0	0,73
115	44,88	30,3	2,3	1,12	22,9	2,0	0,90
	50,53	25,7	2,3	1,14	19,5	1,9	0,83

Rasse 10 erzeugte sowohl bei Konzentration 1 wie bei Konzentration 2 mit und ohne Lüftung mehr Alkohol als in den Versuchen in Traubenmost; doch tritt dieser Unterschied in der gelüfteten Probe viel stärker hervor als ohne Lüftung.

Rasse 115 hatte in den gelüfteten Lösungen weniger Alkohol als im Most gebildet. Ohne Lüftung dagegen war der Alkoholgehalt erheblich höher als in Most.

Also auch in hochkonzentrierten Lösungen hatte die Lüftung einen günstigen Einfluß auf das Gärvermögen aller 3 Rassen, bei den niedrigen sowohl wie bei den höheren Konzentrationen.

Rasse 1 zeichnet sich hier wie auch bei den oben besprochenen Gärversuchen dadurch aus, daß sie bei allen Konzentrationen bei Lüftung weniger flüchtige Säure bildet als ohne Lüftung. Die anderen Rassen zeigen gerade das umgekehrte Verhalten.

Bei allen 3 Rassen wurden bei den verschiedenen Konzentrationen fast die gleichen Mengen von flüchtiger Säure gebildet. Wenn man aber die in Traubenmost erhaltenen Werte (s. Tab. 4 und 5) mit den im letzten Versuch (s. Tab. 9) gefundenen Werten vergleicht, sieht man doch, daß mit Zunahme des Zuckergehaltes einer Nährlösung die Menge der gebildeten flüchtigen Säure zunimmt. Das gleiche hat R. von der Heide (1907, S. 254) bei 2 Apiculatus-Hefen und auch bei 4 Weinhefen festgestellt. Auch Seiß (1907, S. 399) konnte bei verschiedenen Apiculatusstämmen diese Erscheinung nachweisen. Bekanntlich zeigen dasselbe Verhalten viele Angehörige der Gattung Saccharomyces.

3. Assimilationsversuche.

Die Durchführung von Assimilationsversuchen mit Zuckern ist bei den zugespitzten Hefen mit großen Schwierigkeiten verbunden. Sie wachsen nach Will (1916 a, S. 244) in einer mineralischen Nährlösung mit Asparagin als Stickstoffquelle sehr schwach. In verschiedenen derartigen Nährlösungen mit Asparagin- oder Peptonzusatz konnte ich die von mir untersuchten Rassen gar nicht zur Entwicklung bringen. Hefewasser dagegen eignet sich für Assimilationsversuche mit Zuckern nicht gut, da es an sich schon so viel Kohlenstoffverbindungen enthält, daß es das Kohlenstoffbedürfnis der Hefen decken kann. Wie sich später zeigte, können sich die zugespitzten Hefen gut in reinem Hefewasser entwickeln. Da aber die Bestimmung der Zucker, vor allem die der Di- und Trisaccharide, ziemlich schwierig und bei so kleinen Mengen fast unmöglich ist, kann man keine derartigen Versuche mit Hefewasser anstellen. Ich versuchte deshalb mit der auxanographischen Methode von Beijerinck (1921, Teil 2, S. 190) zum Ziel zu kommen. Dabei wurden Glukose, Galaktose, Saccharose, Laktose, Maltose und Raffinose verwendet. Obwohl ich diesen Versuch mehrmals wiederholte, konnte ich damit zu keinem Ergebnis gelangen. Da bei der Vergärung von Glukose, Fruktose und Mannose auch eine starke Vermehrung dieser Organismen stattfindet, werden diese Zucker zweifellos auch gut assimiliert. Ob und in welchem Maße die übrigen Zucker assimilierbar sind, konnte ich nicht aufklären.

Für Assimilationsversuche mit organischen Säuren läßt sich auch eine von Kohlenstoffverbindungen nicht ganz freie Nährlösung wie Hefewasser verwenden. Durch Vergleich des Wachstums in reinem Hefewasser mit dem in den Lösungen der verschiedenen organischen Säuren lassen sich brauch-

bare Anhaltspunkte für den Wert einer Säure als Kohlenstoffquelle gewinnen. Beobachtet man also neben stärkerem Wachstum auch eine merkliche Säureabnahme, so kann man sicher sein, daß die betreffende Säure assimiliert wird.

Als Grundlösung diente bei meinen Versuchen gewöhnliches Hefewasser, das mit 5 g/l Wein-, Äpfel-, Bernstein-, Zitronen- oder Milchsäure oder mit 3 g/l Essigsäure versetzt wurde. Zu den Versuchen wurden je 100 ccm Flüssigkeit in 150 ccm fassenden Fläschchen verwendet, die mit Wattestopfen verschlossen waren. Nach dem Sterilisieren wurden sie mit Hefe aus 4 Tage alten Kulturen beimpft und bei 25° C im Thermostaten aufgestellt.

Bald machte sich in dem mit Essigsäure versetzten Hefewasser eine gute Entwicklung aller Rassen bemerkbar. Schon nach einigen Wochen hatten die meisten hier eine mehr oder weniger starke Haut gebildet. Auch in reinem Hefewasser entwickelten sie sich gut, und auch hier entstand bei den meisten Rassen eine Haut. In den Lösungen der anderen Säuren dagegen war bei allen Rassen die Entwicklung sehr schwach.

Nach 96 Tagen wurde der Versuch abgebrochen und die einzelnen Proben auf ihren Säuregehalt untersucht. Der Gehalt an Wein-, Äpfel-, Bernstein-, Milch- und Zitronensäure wurde mit $\frac{1}{3}$ N. Natronlauge bestimmt. Bei den Essigsäurelösungen wurde die Gesamtsäure ebenfalls auf diese Weise bestimmt. Der Gehalt an flüchtiger Säure wurde nach dem üblichen Destillationsverfahren ermittelt (s. S. 100). Doch wurden statt 200 ccm 400 ccm uberdestilliert und in diesem Destillat wurde die flüchtige Säure mittels $^1/_{12}$ N. Natronlauge festgestellt.

Alle Einzelheiten sind aus Tab. 10 ersichtlich. Unter den angegebenen Versuchsbedingungen wird von den untersuchten zugespitzten Hefen, wie man sieht, keine der nicht flüchtigen organischen Säuren assimiliert. In den meisten Fällen hatte der Säuregehalt dieser Flüssigkeiten während des Versuches sogar zu- statt abgenommen. Auch das ausgesprochen schwache Wachstum der Organismen in diesen Lösungen (sie entwickelten sich hier viel schwächer als in reinem Hefewasser) spricht dafür, daß sie hier keine günstigen Entwicklungsbedingungen vorfanden.

Tabelle 10.

Rasse Nr.	Zur Neutralisation von 25 ccm der verschiedenen Flüssigkeiten verwendete $\frac{1}{3}$ N. Natronlauge (in ccm)								
	Hefewasser	Weinsäure	Äpfelsäure	Bernsteinsäure	Zitronensäure	Milchsäure	Essigsäure		% Verlust an flüchtig. Säuren
							Gesamtsäure	flüchtige Säure g/l	
Kontrolle	0,6	5,1	5,2	6,4	5,5	4,8	4,2	3,11	—
1	0,8	5,2	5,3	6,5	5,6	4,9	4,0	2,84	9
8	0,9	5,0	5,0	6,5	5,5	4,8	2,0	1,19	61
10	0,8	5,1	5,0	6,4	5,5	4,8	3,1	2,01	35
52	1,1	4,9	5,2	6,5	5,5	4,8	3,4	2,25	28
71	1,1	5,1	5,2	6,5	5,6	4,9	3,5	2,35	24
73	0,8	5,0	5,2	6,4	5,5	5,0	4,0	2,71	13
78	1,0	5,2	5,2	6,5	5,6	4,9	3,3	2,25	28
28	0,9	5,1	5,2	6,5	5,5	5,0	1,1	0,61	80
85	1,2	5,1	5,2	6,5	5,6	5,0	2,8	1,12	64
99	1,2	5,1	5,3	6,5	5,6	5,0	3,1	2,20	32
100	1,3	5,1	5,2	6,5	5,5	5,0	3,1	2,20	32
110	1,2	5,0	5,2	6,5	5,6	5,1	2,9	1,96	37
115	1,1	5,1	5,2	6,6	5,6	5,0	3,3	2,17	27
127	1,2	5,1	5,2	6,5	5,6	5,1	3,9	2,77	11
136	1,0	5,1	5,2	6,5	5,6	5,0	3,2	2,13	31
149	1,1	5,0	5,2	6,5	5,6	5,0	2,1	1,27	59
154	1,0	5,1	5,2	6,4	5,5	5,0	1,4	0,77	75

Gegenüber der Essigsäure verhalten sie sich ganz anders. Wie schon erwähnt, entwickelten sich die Hefen in Hefewasser mit Essigsäure sowohl als Haut wie im Bodensatz alle kräftig. Die Säurebestimmungen ergaben hier auch eine erhebliche Abnahme nicht nur im Gehalt an Gesamtsäure, sondern auch in dem an flüchtiger Säure. Man kann als sicher annehmen, daß die Vermehrung der Hefen in diesen Kulturen auf Kosten der Essigsäure stattgefunden hat, daß sie also Essigsäure gut assimilieren können.

In den Flaschen mit der stärksten Hefevermehrung war auch die größte Säureabnahme eingetreten. Wie aus Tab. 10 hervorgeht, assimilierte Rasse 1 die Essigsäure am schwächsten, der Gehalt an flüchtiger Säure nahm hier nur um 9% ab. Bei Rasse 82 mit einem Verlust von 80% der gesamten Essigsäure war die Assimilation am stärksten.

Die Entwicklung der Häute, die darin vorkommenden Zellformen usw. sind unter I, S. 107, näher behandelt worden. Bei allen Rassen kamen im Bodensatz des reinen Hefewassers und des Essigsäure-Hefewassers die gewöhnlichen Zellformen — zugespitzte, ellipsoide bis rundliche Zellen — vor. Bei einzelnen Rassen war die Mehrheit der Zellen ellipsoid, bei anderen wieder zugespitzt. Die Zellen sahen gut ernährt und gesund aus. Meistens war das Plasma homogen und schwach lichtbrechend. Fast alle Zellen waren vakuolisiert und enthielten ein großes oder mehrere kleinere, stark lichtbrechende Körperchen, die sich mit Sudan-Glyzerin rötlich-orange färbten. In den Lösungen aller anderen Säuren erwiesen sich die Zellen als stark geschwächt oder abgestorben.

In der Literatur liegen bisher über die Fähigkeit der zugespitzten Hefen zur Assimilation von Sauren und Zucker nur wenige Angaben vor. Schukow (1896, S. 611) konnte nach 75 tägiger Einwirkung einer Apiculatus-Hefe auf einen verdünnten vergorenen Traubenmost mit 9,6 g/l Gesamtsäure eine Säureabnahme von 2,1 g/l beobachten. Auf Grund gewisser Beobachtungen nimmt Müller-Thurgau (1899, S. 52) an, daß die von ihm untersuchte Apiculatus-Hefe die in einem vergorenen Traubenmost vorkommenden, nicht flüchtigen organischen Säuren assimilieren kann. Will (1916 a, n. 52) kommt nach seinen Versuchen zu dem Schluß, daß Wein-, Äpfel-, Bernstein-, Zitronen- und Milchsäure von diesen Organismen gut assimiliert werden. Auch nach ihm wird Essigsäure ziemlich lebhaft assimiliert, wenn auch von dieser Säure nicht so große Mengen vertragen werden.

Die Ergebnisse meiner Versuche bestätigen die von Will nur hinsichtlich der Essigsäure. In Hefewasser jedenfalls können die von mir untersuchten Rassen die nicht flüchtigen organischen Säuren nicht assimilieren.

4. Die Widerstandsfähigkeit gegen Äthylalkohol.

Da die von mir untersuchten Rassen von zugespitzten Hefen aus weit auseinanderliegenden Gegenden stammen, war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß sie in bezug auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Äthylalkohol Unterschiede zeigten. Dabei war aber auch darauf zu achten, ob diese Widerstandsfähigkeit von den Ernährungsbedingungen abhängig ist, so daß sich bei Verwendung verschiedener Nährflüssigkeiten verschieden hohe Grenzwerte ergeben.

Von Müller-Thurgau (1907, S. 322), Meißner (1920, S. 83) und anderen Autoren wird angegeben, daß die Apiculatus-Hefen bei einem Alkoholgehalt von 4—4,5 Vol.-% nicht mehr sprossen können. Sémichon (1926, S. 43) sagt im Hinblick auf seine Versuche über die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen auf Weinbeeren vorkommenden Organismen gegen Alkohol: „On peut en déduire que si le mout vierge de raisin est introduit dans un milieu contenant au moins 5 pour cent d'alcool, toutes les cellules vulgaires de moisissures et de mycodermes, les lêvures sauvages et les lêvures apiculées seront eliminées . . .“ Hierauf hat er sein Verfahren der

„Fermentation superquatre" gegründet. Nach Will (1916a, S. 272) lag die Wachstumsgrenze für 2 von ihm untersuchte Rassen bei 5,09% und für 2 andere bei 4,18% Alkohol.

Als Nährflüssigkeiten benutzte ich bei meinen Versuchen Hefewasser und Traubenmost.

A. Versuche mit Hefewasser.

Zu 1000 ccm Hefewasser wurden 30 g Glukose und 1,8 g Weinsäure zugesetzt. Berechnete Mengen von reinem, etwa 86 proz. Alkohol wurden in Meßkolben mit diesem Hefewasser aufgefüllt. Die Versuchsflüssigkeiten wurden danach mit einem kleinen Seitz-E. K.-Filter entkeimt, zu je 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt und unmittelbar darauf beimpft. Ein Teil des filtrierten Hefewassers diente zur Bestimmung des Alkoholgehaltes. Beimpft wurde mit je einer Öse aus einer 3 Tage alten Kultur in Traubenmost. Da die damit eingebrachte Hefemenge sehr gering war, ließ sich eine etwa eintretende Vermehrung gut feststellen.

Um ein Verdunsten des Alkohols während des Versuches zu verhindern, wurden die Reagenzgläser in der Weise verschlossen, daß die Wattebäusche etwas in die Gläser hereingedrückt und oben darauf Korkstopfen gesetzt wurden. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen.

Die Ergebnisse sind aus Tab. 11 zu ersehen.

Tabelle 11.

Alkoholkonzentration g/l	Heferasse Nr.															
	1	8	10	52	71	73	78	82	85	99	100	110	115	127	136	149	154
5,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17,9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
34,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
37,8	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	2	3	2	3	3	1
40,8	3	0	0	1	0	0	2	0	0	1	2	1	1	0	1	0	0
50,3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Von den benutzten Zahlwerten bedeuten:

3 gute Entwicklung,
2 mittelmäßige Entwicklung,
1 sehr schwache Entwicklung und
0 das Ausbleiben jeder Entwicklung.

Rasse 1 verträgt also wesentlich mehr Alkohol als die anderen Rassen. Ihr folgen die Rassen 52, 78, 99, 100, 110, 115 und 136, die bei Anwesenheit von 40,8 g/l Alkohol nur noch schwach und bei 50,3 g/l gar nicht mehr sprossen. Am empfindlichsten sind die Rassen 8, 10, 71, 73, 82, 85, 127, 149 und 154, die schon bei einer Konzentration von 40,8 g/l nicht mehr wachsen können. Die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung sind also in einer bestimmten Nährflüssigkeit für die einzelnen Rassen verschieden.

B. Versuche mit Traubenmost.

Zu diesem Versuch wurde ein 1929er weißer Traubenmost von 70° Öchsle und 7,2 g/l Gesamtsäure verwendet. Im übrigen entsprach die Versuchstechnik genau der oben geschilderten. Die Ergebnisse sind in Tab. 12 zusammengefaßt.

Die Entwicklung der Rassen 82, 110, 127 und 154 war bei einem Alkoholgehalt von 30,3 g/l sehr schwach. Es scheint, als ob diese Konzentration gerade die obere Grenze darstellt. Die genannten Rassen zeigten auch in Hefewasser die niedrigsten

Grenzwerte. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Rassen treten also in den beiden Versuchsflüssigkeiten in entsprechender Weise hervor.

Tabelle 12.

Rasse Nr.	Alkoholgehalt des Mostes, g/l						
	13,5	22,3	30,3	36,7	39,0	42,0	59,7
1	3	3	3	3	3	3	3
alle anderen Rassen	3	2	1	0	0	0	0

Ein Vergleich der Tabellen 11 und 12 zeigt deutlich, daß bei den meisten Rassen die Grenzwerte für ihre Entwicklung in Most niedriger liegen als in Hefewasser. Eine Ausnahme hiervon macht nur Rasse 1, deren Grenzwerte in Hefewasser und Most etwa gleich sind. In Traubenmost hört die Sprossung bei allen anderen Rassen schon bei einem Alkoholgehalt von 36,7 g/l auf, während sie in Hefewasser noch bei Anwesenheit von 37,0 g/l sprossen. In Traubenmost scheinen die Grenzwerte für die verschiedenen Rassen näher aneinander zu liegen als in Hefewasser. Aus diesen Beobachtungen geht deutlich hervor, daß die Wachstumsbedingungen für die untersuchten Rassen in Hefewasser günstiger sind als in Traubenmost.

5. Widerstandsfähigkeit gegen schweflige Säure.

In den Schlußsätzen seiner Arbeit über die schweflige Säure im Wein sagt Kerp (1904, S. 39): „Im geschwefelten Most und in stark geschwefelten Süßweinen ist die Anwesenheit von Glukose- bzw. Fruktose-schwefliger Säure anzunehmen. In mäßig geschwefelten, ausgegorenen Weinen ist die gebundene schweflige Säure als acetaldehyd-schweflige Säure enthalten." Und weiter: „Infolge der erheblich größeren Spaltung der Glukose-schwefligen Säure in wässeriger Lösung im Vergleich zu Aldehyd-schwefliger Säure wird unter bestimmten Bedingungen die schweflige Säure in Most pharmakologisch anders zu beurteilen sein als in Wein."

Rost und Franz (1904, S. 212) kommen zu den Schlußfolgerungen, „daß die schweflige Säure durch ihre Anlagerung an Aldehyde, Zucker und Azetone ihre giftigen Eigenschaften für alle Verhältnisse keineswegs verliert". Aber „die Lösung der an den gebundenen schwefligen Säuren vorhandenen organischen Bindung ist die notwendige Voraussetzung für den Eintritt der Wirkung".

Kerp nimmt also an, daß die Glukose- und Fruktose-schweflige Säure doch noch einen hemmenden Einfluß ausüben kann, während Rost und Franz überzeugt sind, daß die schweflige Säure erst von dem Zucker abgespalten werden muß, bevor sie eine hemmende Wirkung ausüben kann. Bei eingeschwefelten Mosten kann deshalb nach Rost und Franz kein hemmender Einfluß auf die Lebenstätigkeit der Sproßpilze eintreten, bevor nicht mit Beginn der Gärung die gebundene schweflige Säure durch Aufspaltung aus dem Zuckermolekül freigeworden ist.

Bisher ist diese Frage noch immer nicht ganz geklärt. Müller-Thurgau und Osterwalder (1914, S. 546) sagen hierüber: „Inwieweit die Glukose-schweflige Säure einen gärungshemmenden Einfluß ausübt, geht aus unseren Versuchen nicht hervor, doch dürfte sie entsprechend ihrem leichten Zerfall in Glukose und freie schweflige Säure nicht ohne hemmende Wirkung bleiben."

Die einzige Angabe über die Widerstandsfähigkeit von zugespitzten Hefen gegen schweflige Säure stammt von Müller-Thurgau (1898, S. 74), der angibt, daß die Apiculatus-Hefen durch 33 mg/l freie schweflige Säure bedeutend gehemmt und durch 65 mg/l in Traubenmost am Wachstum vollkommen verhindert werden. Dabei ist er von der Annahme ausgegangen, daß nur die freie schweflige Säure hemmend wirkt.

Zur Klärung der Frage, ob nur die freie schweflige Säure eine Giftwirkung auf die Entwicklung der zugespitzten Hefen ausüben kann, wurden die folgenden Versuche angesetzt.

Als Nährflüssigkeit diente ein 1930er weißer Traubenmost aus gesunden Trauben. Er enthielt 157 g/l Extrakt und 13,1 g/l Gesamtsäure. Traubenmost hat für solche Versuche den Vorteil, daß er, wie Müller-Thurgau und Osterwalder (1914, S. 493) angeben, keine Aldehyde enthält, wenn er von gesunden Trauben stammt. Die schweflige Säure muß dann an Zucker wie Glukose und Fruktose gebunden sein. Zur Durchführung der Versuche wurden 120 ccm Most in 150 ccm fassende Fläschchen abpipettiert, sterilisiert und am 4. Tag unter Verwendung einer in $^1/_{10}$ ccm geteilten Bürette mit berechneten Mengen einer 1 proz. Lösung von Kaliumpyrosulfit in destilliertem Wasser versetzt. Nur bei 2 Versuchsfläschchen trat eine Infektion durch Schimmelpilze ein, und auch hier erst, als die Versuche schon abgeschlossen waren. 3 Std. nach dem Zusatz der schwefligen Saure wurde in einem Kontrollfläschchen die gesamte und die freie schweflige Säure bestimmt. Die Moste wurden dann aus 3 tägigen Kulturen beimpft. Nach dem Impfen wurden an Stelle der Wattestopfen in 50 proz. Alkohol sterilisierte Korkstopfen aufgesetzt. Versuchstemperatur 25° C.

Zuerst habe ich jedes Fläschchen mit einer Öse von aufgeschütteltem Most beimpft, später jedoch mit je 0,5 ccm davon.

Bei einer Vorprobe ergab sich, daß der Most mit Jod reagierende Stoffe enthielt. Diese waren äquivalent mit 19,0 mg/l gesamtschwefliger Säure und mit 8,5 mg/l freier schwefliger Säure. Da der Most vorher nicht mit schwefliger Säure in Berührung gekommen war, ist es ausgeschlossen, daß diese Reaktion auf die Anwesenheit von schwefliger Säure zurückzuführen sein könnte. Die genannten Werte wurden deshalb bei den folgenden Versuchen immer von den zunächst gefundenen Werten abgezogen.

Versuch 1. Der Most enthielt gesamt-schweflige Säure 55 mg/l, freie schweflige Säure 0 mg/l, gebundene schweflige Säure 55 mg/l.

Nach 3 Tagen befand sich der Most bei allen Rassen in Gärung.

Versuch 2. Der Most enthielt gesamte schweflige Säure 74,5 mg/l, freie schweflige Säure 0,5 mg/l, gebundene schweflige Säure 74,0 mg/l. Nach 4 Tagen begann der mit Rasse 1 beimpfte Most zu gären. Bei den anderen Rassen konnte zu diesem Zeitpunkt noch keine Entwicklung beobachtet werden.

Nach	6	Tagen	gärten	die	Moste	mit	den	Rassen	52, 71, 136.
„	7	„	„	„	„	„	„	„	8, 10, 73, 78, 85 und 127.
„	9	„	„	„	„	„	„	„	82, 110 und 115.
„	10	„	„	„	„	„	„	„	99.
„	12	„	„	„	„	„	„	„	100 und 149.
„	15	„	„	„	„	„	„	„	154.

Bei einem Vergleich der Ergebnisse dieser 2 Versuche ist es auffallend, daß bei Versuch 2 die Gärung verhältnismäßig sehr spät eintrat. Bei Rasse 1 ist die Verzögerung nicht so stark, aber wie die späteren Versuche zeigten, ist diese Rasse viel widerstandsfähiger gegen schweflige Säure als die anderen. Von diesen zeigten die Rassen 52, 71 und 136 3 Tage, die Rasse 154 12 Tage später eine Gärung als im vorausgehenden Versuch. Da der Most in Versuch 2 nur 0,5 mg/l freie schweflige Säure enthielt — eine Menge, die überhaupt innerhalb der Fehlergrenze liegt —, muß die erhöhte hemmende Wirkung durch die gebundene schweflige Säure verursacht worden sein. Aus den Versuchen geht also hervor, daß nicht nur die freie, sondern auch die gebundene schweflige Säure eine hemmende Wirkung auf die Entwicklung der untersuchten Sproßpilze ausüben kann.

Versuch 3. Der Most enthielt gesamte schweflige Säure 115 mg/l, freie schweflige Säure 4,5 mg/l, gebundene schweflige Säure 110,5 mg/l. Bei geringer Einsaat zeigte Rasse 1 nach 6 Tagen starke Entwicklung. Bei den anderen Rassen war auch nach einem Monat kein Wachstum zu be-

obachten. In den Versuchen, in denen 0,5 ccm des aufgeschüttelten Mostes als Impfmaterial zugegeben wurde, gelangte ich zu folgenden Ergebnissen:

Nach 2 Tagen gärte der Most mit der Rasse 1.
Nach 3 Tagen gärte der Most mit der Rasse 10.
Nach 4 Tagen gärten die Moste mit den Rassen 136 und 73.
Nach 5 Tagen gärten die Moste mit den Rassen 52, 71, 78, 100, 110, 115, 127 und 154.
Nach 6 Tagen gärte der Most mit der Rasse 149.
Nach 7 Tagen gärte der Most mit der Rasse 85.
Nach 8 Tagen gärten die Moste mit den Rassen 8 und 82.

Die Ergebnisse zeigen, daß zur Feststellung der maximalen Entwicklungsgrenze die Aussaatmenge nicht zu klein sein darf. Bei den weiteren Versuchen habe ich deshalb eine größere Menge Impfmaterial (0,5 ccm) zugegeben.

Versuch 4. Der Most enthielt gesamte schweflige Säure 125,0 mg/l, freie schweflige Säure 7,5 mg/l, gebundene schweflige Säure 117,5 mg/l. Nach 6 Tagen befand sich der mit der Rasse 1 beimpfte Most in Gärung. Alle anderen Rassen zeigten auch nach einem Monat keine Entwicklung.

Versuch 5. Der Most enthielt gesamte schweflige Säure 141,0 mg/l, freie schweflige Säure 11,5 mg/l, gebundene schweflige Säure 129,5 mg/l. Nur Rasse 1 zeigte in diesem Versuch Entwicklung, und zwar nach 8 Tagen. Auch nach einem Monat war bei allen anderen Rassen noch keinerlei Wachstum eingetreten.

Versuch 6. Der Most enthielt gesamte schweflige Säure 150,0 mg/l, freie schweflige Säure 17,5 mg/l, gebundene schweflige Säure 132,5 mg/l. Zum Versuch wurde nur Rasse 1 verwendet. Der Most kam nach 16 Tagen in Gärung.

Versuch 7. Der Most enthielt gesamte schweflige Säure 173,0 mg/l. freie schweflige Säure 35,5 mg/l, gebundene schweflige Säure 137,5 mg/l. Auch zu diesem Versuch wurde nur Rasse 1 verwendet. Der Most kam nach 20 Tagen in Gärung. Diese Rasse kann sich also in einem Most mit 173 mg/l gesamter und 35,5 mg/l freier schwefliger Säure, wenn auch langsam, entwickeln. Die anderen Rassen dagegen sind viel empfindlicher. Sie vermögen nicht mehr in einem Most mit 125 mg gesamter und 7,5 mg freier schwefliger Säure im Liter sich zu vermehren.

Da bei ein und derselben Menge gesamtschwefliger Säure die Anteile an gebundener und freier Säure bei verschiedenen Mosten verschieden groß sein können, dürfen diese Ergebnisse nicht verallgemeinert werden.

Bekanntlich wird die freie schweflige Säure in Mosten und Weinen durch Oxydation allmählich in Schwefelsäure übergeführt. In dem Maße, als diese Umwandlung vor sich geht, sinkt auch die Giftwirkung der schwefligen Säure. Inwieweit derartige Veränderungen bei meinen Versuchen eintraten, habe ich nicht untersucht. Bei der verhältnismäßig kurzen Versuchsdauer können sie aber keine wesentliche Rolle gespielt haben.

6. Widerstandsfähigkeit gegen organische Säuren.

Durch diese Versuche sollte festgestellt werden, in welcher Konzentration organische Säuren entwicklungshemmend auf die verschiedenen Rassen von zugespitzten Hefen wirken. Als Nährlösung diente gewöhnliches Hefewasser mit einem Zusatz von 10% Saccharose. Geprüft wurde das Verhalten gegenüber Wein-, Äpfel-, Zitronen- und Essigsäure, also den in ver-

gorenem und unvergorenem Traubenmost und anderen Obstsäften am häufigsten vorkommenden Säuren.

Es wurden zunächst mit dem gezuckerten Hefewasser verhältnismäßig konzentrierte Säurelösungen hergestellt (Weinsäure 91,0 g/l, Äpfelsäure 141,1 g/l, Zitronensäure 146,3 g/l und Essigsäure 50,0 g/l). Diese Lösungen wurden in Mengen von je 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt, sterilisiert und aus 4 Tage alten Mostkulturen beimpft.

Wenn sich nach 14 Tagen in einer Lösung keine Entwicklung zeigte, wurde ihr Säuregehalt mit dem gleichen gezuckerten Hefewasser um ungefähr 10 g je Liter herabgesetzt. Säurebestimmung und ph-Messung wurden dann wiederum ausgeführt.

In der folgenden Tabelle sind für die untersuchten Säuren die Höchstkonzentrationen angegeben, bei welchen sich die Hefen noch entwickeln können.

Erwähnt sei, daß in diesen Versuchen, mit Ausnahme der Essigsäurelösungen, die Organismen sich immer in den oberen Flüssigkeitsschichten entwickelten. Von hier aus sanken kleine Flöckchen von Hefe nach unten und bildeten einen Bodensatz. Sonst blieb die Flüssigkeit ziemlich klar. Offenbar sind die untersuchten Sproßpilze unter derartigen Bedingungen also ebenso wie in hochkonzentrierten Zuckerlösungen außerordentlich sauerstoffbedürftig. Daß das spezifische Gewicht der Flüssigkeit die Hefezellen an der Oberfläche gehalten haben könnte, ist nicht denkbar. Die mikroskopische Untersuchung ergab keine Besonderheiten.

Wie die Zahlenwerte in Tab. 13 zeigen, sind die untersuchten Sproßpilze besonders empfindlich gegen Essigsäure, die unter normalen Verhältnissen in Traubenmost und anderen Fruchtsäften niemals in nennenswerter Menge vorkommt. Die Entwicklungsgrenze bildet bei dieser Säure eine Konzentration von 5,9 g/l. Von den nicht flüchtigen Säuren werden viel höhere Konzentrationen vertragen. Offenbar wird bei diesen Säuren die Entwicklungsgrenze in erster Linie von der Wasserstoffionenkonzentration bestimmt.

Tabelle 13.

Rasse Nr.	Die maximalen Konzentrationen verschiedener organischer Säuren für das Wachstum der zugespitzten Hefen							
	Weinsäure		Äpfelsäure		Zitronensäure		Essigsäure	
	g/l	ph-Wert	g/l	ph-Wert	g/l	ph-Wert	g/l	ph-Wert
1	28,5	2,0	55,0	2,1	53,6	1,9	5,9	3,5
8	35,5	1,8	92,0	1,8	61,6	1,9	5,9	3,5
10	35,5	1,8	77,7	1,9	61,6	1,9	5,9	3,5
52	35,5	1,8	73,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
71	35,5	1,8	73,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
73	46,0	1,8	65,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
78	35,5	1,8	87,1	1,8	61,6	1,9	5,9	3,5
82	35,5	1,8	65,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
85	35,5	1,8	77,7	1,9	61,6	1,9	5,9	3,5
99	35,5	1,8	65,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
100	35,5	1,8	77,7	1,9	61,6	1,9	5,9	3,5
110	35,5	1,8	77,7	1,9	61,6	1,9	5,9	3,5
115	35,5	1,8	73,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
127	35,5	1,8	65,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
136	35,5	1,8	65,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5
149	35,5	1,8	87,1	1,8	61,6	1,9	5,9	3,5
154	35,5	1,8	65,2	2,0	61,6	1,9	5,9	3,5

Der ph-Grenzwert scheint etwa zwischen 2,1 und 1,8 zu liegen. Dagegen wird in den Lösungen der Essigsäure das Wachstum nicht durch den Säuregrad, sondern durch gewisse spezifisch chemische Wirkungen dieser Säure gehemmt. Denn in Essigsäurelösungen von für das Wachstum maximaler Konzentration beträgt der ph-Wert nur 3,5.

Je stärker die Säuren dissoziiert sind, um so schlechter werden sie von den Hefen vertragen. Äpfelsäure hemmt deshalb bei gewichtsmäßig gleicher Konzentration ungefähr halb so stark wie Weinsäure.

Auch hier unterscheidet sich Rasse 1 von den anderen, indem sie gegenüber den nicht flüchtigen organischen Säuren erheblich empfindlicher ist. In der Literatur liegen hierüber noch kaum Angaben vor. In einer Peptonlösung mit 5% Maltose liegt nach Will (1916 a, S. 282) die maximale Konzentration von Wein-, Äpfel-, Bernstein-, Zitronen- und Milchsäure zwischen 3 und 5%. Unter den beschriebenen Versuchsbedingungen waren die von mir untersuchten Rassen mit Ausnahme von Rasse 1 erheblich unempfindlicher gegen Äpfel- und Zitronensäure.

7. Verhalten bei höheren Temperaturen.

A. Grenztemperaturen für die Vermehrung.

Die einzigen Angaben hierüber stammen von Will (1916 a, S. 273) und Klöcker (1913, S. 309 und 316). Will gibt an, daß in den von ihm verwendeten Nährflüssigkeiten die oberen Grenztemperaturen bei 4 untersuchten Rassen zwischen 34 und 35° C schwankten, und daß das Temperaturmaximum je nach der verwendeten Nährflüssigkeit wechselte. In einer späteren Arbeit hat Will (1922, S. 470) bei echten Saccharomyceten gefunden, daß bei derartigen Untersuchungen die Ergebnisse durch die Hefeeinsaatmenge und die Zusammensetzung der Nährflüssigkeit beeinflußt werden. Auch der physiologische Zustand der Zellen hat meines Erachtens darauf einen Einfluß.

Nach Klöcker (1913, S. 308) sind die Temperaturgrenzen wichtige Unterscheidungsmerkmale. Bei den 17 von ihm untersuchten Rassen zugespitzter Hefen schwankten die Maximaltemperaturen zwischen 32 und 39° C.

Bei meinen Versuchen verwendete ich als Nährflüssigkeiten Hefewasser mit 130 g/l Saccharose und 1 g/l Weinsäure und 1929er weißen Traubenmost mit einem Gehalt von 160 g Extrakt, etwa 130 g/l Zucker und 6,1 g/l Gesamtsäure.

Während der mehrmaligen Sterilisation des Hefewassers wurde die Saccharose größtenteils invertiert. Die beiden Versuchsflüssigkeiten besaßen also den gleichen Zuckergehalt und unterschieden sich, abgesehen von den Eiweißstoffen, vor allem im Säuregehalt. Die eine Flüssigkeit war stark, die andere schwach sauer.

Zur Beimpfung wurden bei diesen Versuchen stets Zellen aus 3 Tage alten, bei 25° C herangezüchteten Mostkulturen verwendet. Die Einsaatmenge betrug in einer Versuchsreihe eine Öse Hefe aus den aufgeschüttelten Mostkulturen, in einer zweiten Versuchsreihe 2 Tropfen Bodensatzhefe. Die Versuche wurden in Reagenzgläsern, die 10 ccm der betreffenden Flüssigkeiten enthielten, durchgeführt.

Sofort nach der Beimpfung wurden die Reagenzgläser in einen Thermostaten von der gewünschten Versuchstemperatur gebracht, wo sie 14 Tage verblieben. Hiernach kamen sie in einen Brutraum von 25° C, um zu sehen, ob dort, wo keine Entwicklung eingetreten war, die eingeimpften Zellen alle abgetötet waren.

Die Maximaltemperaturen für alle Rassen, die in Tab. 13 aufgeführt sind und auch zu diesem Versuch herangezogen wurden, liegen bei Wachs-

tum in Traubenmost zwischen 34,5 und 35,5° C. Bei Rasse 1 scheint die entwicklungshemmende Temperatur näher bei 34,5° C zu liegen, denn sie zeigte schon bei dieser Temperatur nur sehr schwaches Wachstum. Die anderen Rassen dagegen wuchsen bei 34,5° C noch sehr gut. Bei 35,5 und 36,5° C zeigen sie aber kein Wachstum mehr, auch wenn sie nach 14 Tagen auf eine Temperatur von 25° C gebracht wurden. Sie waren also offenbar durch den 14tägigen Aufenthalt bei 35,5 und 36,5° C abgetötet.

Auch in Hefewasser wuchs Rasse 1 bei 34,5° C nur sehr schwach. Alle anderen Rassen hatten sich bei dieser Temperatur sehr gut entwickelt, und die Rassen 52, 85, 99, 100 und 154 konnten sich sogar noch bei 35,5° C etwas vermehren. Bei 36,5° C war auch hier die Sprossung unterbunden. Im Thermostaten bei 25° C fingen die Rassen 82 und 127 aus der Versuchsreihe bei 35,5° C wieder an zu sprossen. In den bei 36,5° C gehaltenen Kulturen waren dagegen nach 14 Tagen sprossungsfähige Zellen nicht mehr vorhanden.

Um die Richtigkeit der in diesem Versuch gefundenen Temperaturgrenzen zu kontrollieren, wurde eine 2. Versuchsreihe mit einer größeren Hefeeinsaatmenge durchgeführt.

Die erhaltenen Ergebnisse im Versuch mit Traubenmost entsprechen bei 34,5° C denen, die im 1. Versuch bei kleinerer Einsaatmenge erhalten wurden. Bei 35,5° C machten sich aber schon erhebliche Unterschiede bemerkbar. Die Rassen 8, 52, 71, 78, 82, 99, 100, 110 und 136 zeigten bei reichlicher Hefeaussaat bei dieser Temperatur starke Entwicklung. Die Kulturen, bei denen kein Wachstum eingetreten war, wurden, nachdem sie noch eine Woche lang, ohne sich zu verändern, bei 25° C gestanden hatten, mikroskopisch untersucht. In allen Fällen bestand der Bodensatz ausschließlich aus abgestorbenen Zellen. Ein 14tägiger Aufenthalt bei 35,5° C wirkte auf diese Rassen also tödlich. Dasselbe war auch in dem Traubenmost bei 36,5° C der Fall.

In Hefewasser zeigten bei 35,5° C alle Rassen mit Ausnahme von Rasse 1, die sich hier gar nicht mehr entwickelte, starke Vermehrung. Eine Temperatur von 36,5° C dagegen wirkte bei allen Rassen tödlich; nach 14 Tagen waren alle Zellen abgestorben. Dasselbe war auch bei Rasse 1 bei 35,5° der Fall.

Für die Rassen 1, 10, 73, 85, 115, 127, 149 und 154 liegt demnach die Maximaltemperatur für das Wachstum in Traubenmost zwischen 34,5 und 35,5° C. Für Rasse 1 liegt sie etwas tiefer als bei den übrigen. Die Maximaltemperatur für das Wachstum der Rassen 8, 52, 71, 78, 82, 99, 100, 110 und 136 liegt zwischen 35,5 und 36,5° C. Da die Zellen in den Fällen, wo sie sich nicht vermehren konnten, immer abgestorben waren, ist anzunehmen, daß sie durch längeren Aufenthalt bei Temperaturen, die etwas über die Maximaltemperatur hinausgehen, abgetötet werden. Für alle Rassen liegt die Maximaltemperatur bei Kultur in Traubenmost etwas tiefer als in Hefewasser. Die Versuche bestätigen schließlich auch die Angabe von Will, daß bei solchen Untersuchungen die Hefeeinsaatmenge nicht zu klein sein darf.

B. Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen (Abtötungstemperatur).

Versuche über die Abtötungstemperaturen der Apiculatus-Hefen sind bereits von verschiedenen Forschern angestellt worden (s. Klöcker, 1912, S. 376). Da diese Beobachtungen aber meist ohne Angaben wich-

tiger Einzelheiten, z. B. des physiologischen Zustandes des Impfmaterials und der sonstigen Bedingungen veröffentlicht worden sind, lassen sich ihre Ergebnisse systematisch kaum verwenden. Es kommt hinzu, daß bei diesen Untersuchungen, die gewöhnlich praktischen Zwecken dienten, keine Flüssigkeiten von konstanter Zusammensetzung verwendet wurden.

Klöcker (1913, S. 310 und 317) verdanken wir die ersten, systematisch brauchbaren Untersuchungen in dieser Richtung. Bei den 17 von ihm beschriebenen Formen von zugespitzten Hefen schwankte die Abtötungstemperatur in Bierwürze bei ½stündigem Erhitzen zwischen 42 und 52° C. Leider hat auch er nicht mit einem „Standardmedium" gearbeitet. Wie Will (1916 a, S. 274) in seiner Arbeit mit Recht bemerkt, hat Würze ebenso wie Hefewasser und Traubenmost keine konstante Zusammensetzung, weshalb sie sich nicht gut für systematische Untersuchungen eignet.

Auch Will (1916 a, S. 275) hat hierüber Versuche angestellt und zwar sowohl mit Würze als mit destilliertem Wasser. Letzteres sollte eine „Normalflüssigkeit", wie er sie nennt, sein. Seine Ergebnisse stimmen aber nicht sehr gut überein, und zusammenfassend sagt er, „die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen ist bei den Apiculatuskulturen bis jetzt eine viel zu unsichere Grundlage, als daß hierauf unterscheidende Merkmale aufgebaut werden können". Vielleicht lag die Ursache für die ungenügende Übereinstimmung seiner Ergebnisse darin, daß die Reagenzgläser mit den Organismen erst allmählich auf die eigentliche Versuchstemperatur angewärmt wurden.

Bei meinen Versuchen habe ich destilliertes Wasser (als „Standardflüssigkeit") und Traubenmost verwendet. Der Most war 1930 von weißen Trauben gekeltert und enthielt 172 g/l Extrakt und 12,5 g/l Gesamtsäure.

Die Versuche wurden folgendermaßen durchgeführt. Ganz dünnwandige Reagenzgläser wurden mit je 10 ccm Most bzw. 5 ccm destilliertem Wasser beschickt und sterilisiert. Bei dem 1. Versuch wurde je 1 Öse Hefe aus gut aufgeschüttelten Kulturen verwendet. Da in diesem Versuch noch viele Unregelmäßigkeiten in den Ergebnissen auftraten, wurde er unter den gleichen Bedingungen, aber mit einer größeren Hefeeinsaatmenge wiederholt, indem die Gläser mit je 1 Öse Bodensatzhefe (Hefetrub) beimpft wurden. Die Beimpfung wurde unmittelbar vor dem Erhitzen vorgenommen, wobei darauf geachtet wurde, daß keine Zellen an den Glaswandungen der Reagenzgläser haften blieben. Die Temperatur wurde mit Hilfe eines Thermometers kontrolliert, der in ein nicht beimpftes Reagenzglas eintauchte. 2—3 Min. nachdem die Reagenzgläser in das heiße Wasser gebracht worden waren, war ihre Temperatur im Innern genau so hoch wie die des Wasserbades. Es wurde deshalb nach dem Eintauchen der Versuchsröhrchen erst 3 Min. gewartet und von da ab die Versuchsdauer berechnet. Diese betrug 30 Min. Danach wurden sie schnell herausgenommen und in kaltes Wasser gestellt. Die Temperatur des Wasserbades schwankte um 0,2—0,5° C. Durch häufiges Umrühren wurde für gleichmäßige Wärmeverteilung gesorgt.

Die Versuchsröhrchen tauchten bis auf 5 cm vom oberen Rande in das Wasser ein.

Bei den Versuchen mit destilliertem Wasser wurden nach der Abkühlung unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln in jedes Glas 5 ccm steriler Most zugegeben. Alle Röhrchen wurden schließlich zur weiteren Beobachtung bei Zimmertemperatur aufgestellt. In den weniger hoch erhitzten Röhrchen trat die Hefeentwicklung bald ein, bei den stärker erwärmten dauerte es meistens 1—1½ Wochen. In zweifelhaften Fällen wurde mikroskopisch kontrolliert, ob nicht eine Infektion durch andere Organismen stattgefunden hatte. Alle Versuche wurden doppelt angesetzt.

1. Verhalten beim Erhitzen in destilliertem Wasser.

A. Einsaatmenge eine Öse aufgeschüttelter gärender Most.

Da in dem 1. Versuch, der mit Temperaturen von 40, 42, 44 und 46° ausgeführt war, Unregelmäßigkeiten im Verhalten verschiedener Rassen zutage traten, wurde ein Versuch mit größeren Einsaatmengen angestellt.

Bis 44° C stimmten die Ergebnisse der 2 Versuche sehr gut überein. Sobald aber die Temperaturen etwas erhöht wurden und sich der Abtötungstemperatur näherten, traten wesentliche Unterschiede auf. Bei 46° C ergaben die Rassen 1, 8, 52, 73, 78, 82, 85, 99, 100, 115, 127 und 136 noch einigermaßen übereinstimmende Resultate. Die Rassen 10, 71, 110, 149 und 154 konnten bei größerer Einsaatmenge bei dieser Temperatur noch lebend erhalten werden, während im vorhergehenden Versuch bei kleiner Einsaatmenge alle Zellen abgestorben waren.

B. Einsaatmenge eine Öse Bodensatzhefe.

Tabelle 14.

Rasse Nr.	Verhalten bei									
	44° C		46° C		48° C		50° C		52° C	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0
8	X	X	X	0	X	0	0	0	0	0
10	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0
52	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0
71	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0
73	X	X	0	X	X	X	0	0	0	0
78	X	X	0	X	0	0	0	0	0	0
82	X	X	0	0	0	0	0	0	0	0
85	X	X	X	X	0	X	0	0	0	0
99	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0
100	X	X	0	X	0	0	0	0	0	0
110	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0
115	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0
127	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0
136	X	X	X	X	X	X	X	X	0	X
149	X	X	X	X	0	X	0	0	0	0
154	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0

Die Buchstaben a und b bezeichnen die beiden Versuchsreihen. Es bedeutet 0 kein Wachstum nach 11 Tagen und X ein gutes Wachstum nach dieser Zeitdauer.

Rasse 136 unterscheidet sich hinsichtlich der Temperaturresistenz in destilliertem Wasser also wesentlich von den anderen.

2. Verhalten bei Erhitzen in Traubenmost.

A. Bei Verwendung kleiner Einsaatmengen zeigten sich innerhalb der Parallelreihen ähnliche Unterschiede wie in destilliertem Wasser.

B. Einsaatmenge eine Öse Bodensatzhefe.

Tabelle 15.

Rasse Nr.	Verhalten bei							
	42° C		44° C		46° C		48 und 50° C	
	a	b	a	b	a	b	a	b
1	X	X	X	X	X	X	0	0
8	X	X	X	X	0	0	0	0
10	X	X	X	X	0	0	0	0
52	X	X	X	X	0	0	0	0
71	X	X	X	X	X	X	0	0
73	X	X	X	X	0	0	0	0
78	X	X	X	X	0	0	0	0
82	X	X	X	X	0	0	0	0
85	X	X	X	X	0	0	0	0
99	X	X	X	X	0	0	0	0
100	X	X	0	0	0	0	0	0
110	X	X	X	X	0	0	0	0
115	X	X	X	X	0	0	0	0
127	X	X	X	X	0	0	0	0
136	X	X	X	X	X	X	0	0
149	X	X	X	X	0	0	0	0
154	X	X	X	X	0	0	0	0

Die Buchstaben a und b bezeichnen die beiden Versuchsreihen. Es bedeutet 0 kein Wachstum nach 11 Tagen und X gutes Wachstum nach dieser Zeitdauer.

Bemerkenswert ist das Verhalten der Rasse 136. Kleine Aussaatmengen dieser Rasse wurden durch 30 Min. langes Erwärmen auf 44° C vollkommen abgetötet, während bei Erhitzung auf 46° C lebende Zellen erhalten blieben. Diese Beobachtung zeigt wieder, daß bei derartigen Prüfungen nicht zu kleine Einsaatmengen benutzt werden dürfen.

Die Abtötungstemperaturen liegen also für alle Rassen in Most erheblich tiefer als in destilliertem Wasser. Im Gegensatz zu den Befunden von Will (1916 a, S. 287) zeigen diese Versuche, daß die Abtötungstemperaturen für jede Rasse in ein und derselben Flüssigkeit konstant sind und sich deshalb sehr wohl bei der systematischen Beschreibung verwerten lassen, vorausgesetzt, daß die Einsaatmenge nicht zu gering ist.

8. Der Einfluß der Reaktion und der Zuckerart auf die Verflüssigung der Gelatine.

Bei dem Versuch, Riesenkolonien auf Hefewasser-Gelatine anzulegen, stellte es sich heraus, daß sich hier bereits wenige Tage nach dem Aufbringen der Hefe die Gelatine zu verflüssigen begann. Darauf suchte ich im folgenden Versuch zu ermitteln, ob die Verflüssigung bei verschiedener Reaktion des Substrates eintrat. Eine Hefewasser-Gelatine aus 100 ccm Hefewasser, 10 g Gelatine und 2 g Glukose wurde teils sauer, teils alkalisch gemacht, indem zu je 100 ccm Gelatine 2 ccm einer Normallösung von Weinsäure bzw. 1 ccm einer Normallösung von Natriumhydroxyd zugesetzt wurde. Ein dritter Teil der Gelatine wurde mittels $^1/_{12}$ N. Natronlauge und Lackmuspapier als Indikator genau neutralisiert.

Auf diesen Gelatine-Nährböden wurden dann wiederum Riesenkolonien angelegt, mit dem Erfolg, daß die Gelatine in allen Fällen verflüssigt wurde.

Auch Traubenmost-Gelatine wurde mit Ausnahme von Rasse 1 von allen Rassen bald verflüssigt. Würze-Gelatine dagegen wurde durch Riesenkolonien erst nach 2 Mon. verflüssigt.

Um diese scheinbaren Unregelmäßigkeiten und den Einfluß von Reaktion und Zuckerart auf die Verflüssigung der Gelatine aufzuklären, wurde der folgende Versuch angestellt.

Hefewasser wurde mit Natronlauge unter Verwendung von Lackmuspapier als Indikator neutralisiert. Ein Teil davon wurde unverändert, also neutral verwendet, ein zweiter Teil wurde durch Zusatz von 4 ccm einer normalen Salzsäurelösung auf je 100 ccm Hefewasser angesäuert, ein dritter Teil alkalisch gemacht, indem zu je 100 ccm einer normalen Natriumkarbonatlösung zugesetzt wurde. Mit jeder dieser Flüssigkeiten wurden 3 Gelatine-Nährböden hergestellt, die sich nur in der Art des zugesetzten Zuckers voneinander unterschieden. Die Nährböden hatten also folgende Zusammensetzung:

Hefewasser (neutral, sauer oder alkalisch)	100 ccm
Gelatine	6 g
Zucker (Glukose, Saccharose oder Maltose)	2 g

Es standen also 9 verschiedene Nährböden zur Verfügung, mit 3 verschiedenen Reaktionen und in jeder Reaktionsstufe mit 3 verschiedenen Zuckerarten. Mit dem Wulff schen Folien-Kolorimeter ergaben sie die folgenden ph-Werte: Mit saurer Reaktion, ph = 4,5, mit „neutraler" Reaktion, ph = 6,3, mit alkalischer Reaktion, ph = 7,6. Die Gelatine wurde zu je 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt. Die Höhe der Gelatineschicht in den Röhrchen betrug ungefähr 60 mm. Das Impfmaterial wurde 4 Tage alten Traubenmostkulturen entnommen. Die Gelatine wurde auf 33—35° C erwärmt und dann mit je einer Öse aus den aufgeschüttelten Mostkulturen beimpft. Um die Zellen gleichmäßig in der Gelatine zu verteilen, wurden die beimpften Röhrchen kräftig umgewirbelt. Darauf wurden sie über Nacht kalt gestellt, damit die Gelatine gut erstarren konnte, und am folgenden Tag in einen Thermostaten bei 25° C gebracht.

Nach 4 Tagen zeigten die Hefen bei allen Reaktionen und mit allen 3 Zuckern Entwicklung. Am besten waren sie bei saurer Reaktion mit Glukosezusatz gewachsen. In dieser Gelatine waren bei fast allen Rassen Kohlensäureblasen zu beobachten. Bei Rasse 1 war zu dieser Zeit die Gelatine noch nicht verflüssigt, bei den anderen Rassen trat an der Oberfläche bereits Verflüssigung ein.

Nach 11 Tagen begann bei Rasse 1 die saure Glukose-Gelatine sich von oben her zu verflüssigen, während die mit Saccharose- und Maltosezusatz noch fest blieb. Die anderen Rassen hatten die saure Glukose-Gelatine schon zu etwa ¾ von oben her verflüssigt, wogegen die Saccharose- und die Maltose-Gelatine erst in einer 1—2 mm dicken Schicht an der Oberfläche verflüssigt war.

Bei neutraler Reaktion hatte Rasse 1 nach 4 Tagen noch keine der Gelatinen verflüssigt. Die anderen Rassen hatten auch nur die Glukosegelatine in einer oberflächlichen Schicht von 1—2 mm Dicke verflüssigt.

Bei alkalischer Reaktion hatte sich die Verflüssigung bei allen Rassen und allen 3 Zuckerarten schon nach 4 Tagen eingestellt. Am stärksten trat sie in der Glukose-Gelatine auf.

Der weitere Verlauf der Verflüssigung ist aus Tab. 16 ersichtlich.

Anfangs war die verflüssigte Gelatine immer etwas dickflüssig. Da die Zellen sich in einer Schicht an der Oberfläche des unverflüssigten Teiles der Gelatine ansammelten, blieb der verflüssigte Teil klar. Später wurde die Gelatine immer dünnflüssiger.

Nach 11 Tagen wurden die Zellen aus der sauren und alkalischen Glukose-Gelatine bei allen Rassen mikroskopisch untersucht. Sie erwiesen sich in allen Fällen noch als durchaus gesund; abgestorbene Zellen waren nicht

Tabelle 16.

Rasse Nr.	Reaktion der Gelatine	Höhe der verflüssigten Glukose-Gelatine in mm nach			Höhe der verflüssigten Saccharose-Gelatine in mm nach			Höhe der verflüssigten Maltose-Gelatine in mm nach		
		24 Tagen	40 Tagen	89 Tagen	24 Tagen	40 Tagen	89 Tagen	24 Tagen	40 Tagen	89 Tagen
1	s	7	7	55	5	10	30	4	8	55
	n	3	6	20	7	8	20	7	9	55
	a	15	25	—	4	5	—	6	20	—
8	s	55	60	60	5	7	15	6	7	20
	n	6	8	18	4	5	10	5	5	10
	a	5	12	—	4	11	—	4	15	—
10	s	55	60	60	5	7	17	5	7	16
	n	7	9	30	3	3	9	3	3	10
	a	6	12	—	1	7	—	4	12	—
52	s	57	60	60	3	5	25	5	8	27
	n	3	13	27	1	3	9	1	3	10
	a	4	5	10	1	1	6	—	—	—
71	s	60	60	60	5	6	20	5	8	60
	n	9	12	20	3	4	10	3	5	10
	a	3	5	11	—	—	—	2	4	12
73	s	50	60	60	4	6	17	4	5	15
	n	7	10	50	2	4	10	2	3	10
	a	3	4	10	0	1	8	1	3	12
78	s	58	60	60	3	5	15	4	7	17
	n	6	8	60	2	3	10	2	3	10
	a	2	4	10	0	2	7	1	2	10
82	s	53	60	60	4	6	25	5	9	60
	n	10	10	60	3	5	12	3	6	12
	a	5	6	14	2	4	8	3	5	7
85	s	55	60	60	4	7	17	5	8	20
	n	7	9	20	3	4	10	4	5	15
	a	5	6	12	1	3	9	4	6	15
99	s	55	60	60	5	7	20	6	9	21
	n	10	12	20	3	4	11	2	4	11
	a	6	7	15	1	2	9	5	6	15
100	s	55	60	60	5	7	20	6	7	19
	n	10	12	60	3	5	13	3	4	10
	a	6	8	17	1	3	9	4	5	15
110	s	60	60	60	5	6	15	5	8	60
	n	10	11	20	2	4	10	2	4	10
	a	5	5	14	1	3	8	2	6	15
115	s	60	60	50	5	6	27	5	7	26
	n	7	8	60	1	4	10	1	2	10
	a	2	5	12	0	3	6	0	1	9
127	s	55	60	60	3	3	15	3	3	20
	n	10	10	17	2	3	9	2	3	10
	a	6	7	16	0	1	9	3	3	14
136	s	60	60	60	4	8	20	6	8	22
	n	7	8	18	2	3	10	2	4	13
	a	6	6	15	2	3	8	5	5	15
149	s	60	60	60	—	—	—	4	6	60
	n	8	10	20	2	4	10	2	5	10
	a	5	5	14	0	1	9	3	4	15
154	s	60	60	60	8	17	—	9	20	—
	n	8	18	—	4	11	—	4	11	—
	a	5	6	13	2	3	10	4	4	16

Es bedeutet s = sauer, n = neutral und a = alkalisch.

vorhanden. Auch am Ende des Versuches, nach 89 Tagen, ergab die mikroskopische Untersuchung der Hefen bei allen Reaktionen und Zuckerarten keine abgestorbenen Zellen. Meistens waren sie etwas stärker vakuolisiert und enthielten ein oder mehrere Ölkörperchen.

Am Ende des Versuches wurden bei der Glukose- und Maltose-Gelatine mit dem Wulffschen Folien-Kolorimeter folgende ph-Werte festgestellt:

Ursprünglich saure Gelatine: ph = 4,5—4,7, ursprünglich „neutrale" Gelatine: ph = 4,9—5,0, ursprünglich alkalische Gelatine: ph = 5,1—5,3.

Wie man sieht, hatte sich der Säuregrad der alkalischen und „neutralen" Gelatine erheblich verstärkt, der der sauren Gelatine war deutlich zurückgegangen.

Die Zahlen in Tab. 16 lassen erkennen, daß bei der Verflüssigung der Gelatine sowohl die Reaktion wie die Zuckerart eine Rolle spielen. Die vergärbare Monose Glukose hat bei allen Rassen die Verflüssigung der Gelatine viel stärker begünstigt als die beiden unvergärbaren Biosen. In der Wirkung dieser beiden Zucker bestehen bei saurer und neutraler Reaktion keine großen Unterschiede. Bei ursprünglich alkalischer Reaktion sind die Maltose-Nährböden nach längerer Versuchsdauer immer etwas stärker verflüssigt als die mit Saccharose. In Glukose-Gelatine war das Wachstum der Hefe von Anfang an stärker. Aber da sich die Hefen in den Gelatinen mit Saccharose und Maltose später auch ziemlich kräftig entwickelten, und die Gelatine trotzdem nicht so schnell verflüssigten, ist es ausgeschlossen, daß Unterschiede in der Vermehrungsstärke den Zeitpunkt der Verflüssigung beeinflußt haben.

Bei Rasse 1 ist die optimale Reaktion für die Verflüssigung der Gelatine die alkalische. Sie unterscheidet sich auch darin von den anderen Rassen, daß sie die Gelatine überhaupt viel langsamer verflüssigt. Alle anderen dagegen zeigen optimale Verflüssigung bei saurer Reaktion. In neutraler Gelatine ist die Verflüssigung bei diesen Hefen viel schwächer und bei alkalischer Reaktion verläuft sie ausgesprochen langsam.

Bekanntlich ist die Verflüssigung von Gelatine durch einen enzymatischen Abbau von Eiweißstoffen zu weniger komplexen Verbindungen (Peptonen und Aminosäuren) zu erklären. Dieser Abbau kann nach Dernby (1917, S. 131) bei den Hefen durch folgende Enzyme verursacht werden: 1. Hefepepsin mit einem optimalen ph-Wert von 4,5, 2. Hefetryptase mit einem optimalen ph-Wert von 7,0 und 3. Hefeereptase mit einem optimalen ph-Wert von 7,8. Die ersten beiden Enzyme können die höheren Bausteine der Eiweißmoleküle zu einfacheren spalten, z. B. zu Peptiden. Diese Peptide werden dann durch die Hefeereptase zu Aminosäuren abgebaut.

Nach Dernby gibt es für jedes Enzym einen gewissen Reaktionsbereich, innerhalb dessen es noch aktiv sein kann. Liegt der ph-Wert der Gelatine noch innerhalb dieser Grenzen, dann bleibt das Enzym wirkungslos. Hiernach scheint es, als ob bei den zugespitzten Hefen anfänglich das meist aktive Enzym das Hefepepsin ist. In der Gelatine mit einem ph-Wert von 4,5—4,7 erfolgte die Aufspaltung der Gelatine immer am schnellsten. In den anfangs neutralen und alkalischen Gelatinen, wo die Hefetryptase wegen ihres optimalen ph-Wertes sehr aktiv sein könnte, geht die Verflüssigung viel langsamer vor sich.

Das wirksame Enzym kann bei diesen Hefen darum nicht dasselbe sein, wie Beijerinck es bei Saccharomyces octosporus gefunden hat. In seinen Versuchen ergab sich als optimal für die Gelatine-

verflüssigung eine schwach alkalische Reaktion, und daraus schließt er, daß hier Hefetryptase wirksam ist.

Nach Beijerinck (1921, Teil 3, S. 269 und 1889, S. 723), Lindner (1930, S. 190) und Oppenheimer (1926, S. 1121) handelt es sich bei dem Gelatine spaltenden Enzymkomplex um Endoenzyme. Oppenheimer schreibt hierüber: „Hahn nannte das Ferment Endotryptase, weil er sie für nahe verwandt dem Trypsin hielt. Es ist in jeder Hefe enthalten, wahrscheinlich in Form eines Zymogens. Intra vitam tritt das Ferment niemals aus der Zelle aus, nur wenn die Hefe in bestimmter Weise abstirbt, z. B. erstickt oder mit Chloroform getötet wird, geht das Zymogen in aktives Ferment über und dies diffundiert dann auch durch die Zellwand." Was Hahn für ein Ferment hielt, sind nach den Untersuchungen von Dernby tatsächlich 3 verschiedene Fermente. Beijerinck meint, daß bei dem Freiwerden der Sporen aus den Asci das Ferment ebenfalls frei wird. Die genannten Forscher nehmen alle an, daß die Gelatineverflüssigung durch Hefen ein nekrobiotischer Vorgang ist und nicht als Folge normaler Lebenstätigkeit aufgefaßt werden kann. Bei meinen Versuchen erwiesen sich die Zellen bei allen mikroskopischen Untersuchungen als lebend und gesund. Es waren auch keine Sporen vorhanden. Es ist somit ganz ausgeschlossen, daß hier die Verflüssigung von Enzymen bewirkt worden sein könnte, die aus abgestorbenen Zellen frei geworden wären. Die Enzyme müssen schon von den lebenden Zellen ausgeschieden und nicht, wie Janke und Holzer (1930, S. 243) annehmen, aus abgestorbenen oder dekadenten Zellen frei geworden sein. Auch Will (1901, S. 807) hat gefunden, daß bei 2 Rassen von Willia anomala (Sacc. anomalus) derartige Enzyme von den lebenden Zellen ausgeschieden werden.

III. Systematik.

Die Benennung und systematische Einordnung der zugespitzten Hefen hat seit den Untersuchungen von Reess schon häufig gewechselt. Von verschiedenen Forschern sind diese Organismen teils zu gleicher Zeit, teils nacheinander zu verschiedenen Gattungen gerechnet worden.

Klöcker (1912, S. 378) hat schon im Jahre 1912 auf diesen chaotischen Zustand in der Systematik der Apiculatus-Hefen hingewiesen. Zur Orientierung über diese Frage mögen die nachfolgenden kurzen Angaben genügen. Ich verweise daneben auf Klöcker (1915, S. 369).

Reess (1870, S. 28) konnte bei den von ihm untersuchten zitronenförmigen Sproßpilzen keine Sporenbildung beobachten. Aber weil „alle seine[1]) bekannten morphologischen Erscheinungen und sein physiologisches Verhalten als Alkoholfermentpilz mit Saccharomyces-Arten übereinstimmen", meinte er „diesen muß er als unvollständig gekannte Art, einstweilen angereiht werden, in der Erwartung, daß bei irgendeinem anderen Kulturverfahren seine Askosporenbildung sich noch werde auffinden lassen". Der Pilz wurde von Reess nur auf Grund seiner Fähigkeit zur alkoholischen Gärung als Saccharomyces-Art angesehen.

2 Jahre später behauptete Engel (1872a, S. 468 und 1872b) bei zugespitzten Hefen eine neue Fruktifikationsform entdeckt zu haben, die eine gewisse Ähnlichkeit mit der der Protomyces-Arten aufwiese. Er schlug deshalb für diese Sproßpilze den neuen Gattungsnamen Carpozym-a vor. Pasteur (1876, S. 148) gebrauchte aber den alten Reessschen Namen Saccharomyces apiculatus. Im Jahre 1881 berichtete Hansen (1911, S. 59), daß es ihm trotz öfters wiederholter Versuche nicht gelungen sei, die Angaben von Engel zu bestätigen. Obwohl er auch keine Askosporenbildung beobachten konnte, behielt er doch den Namen Saccharomyces apiculatus bei. In seiner systematischen Übersicht, die er im Jahre 1904 aufstellte (1904, S. 529), erwähnt er aber Saccharomyces apiculatus nicht.

Van Laer (1893, S. 100) gebrauchte für die Apiculatus-Hefen den Gattungsnamen Pseudosaccharomyces. Im Jahre 1894 gab Beijerinck (1921, Teil 3, S. 266) an, zugespitzte Sproßpilzformen gefunden zu haben, die in seltenen Fällen Sporen bildeten.

Nachdem Lindner (1904) Sporenbildung bei einer zugespitzten Hefe nachgewiesen hatte, schlug er für diese Pilzgruppe den Gattungsnamen Hansenia vor (1904, S. 448). Obwohl dieser Name schon früher von Zopf (1883, S. 539) für eine

[1]) Hiermit ist Saccharomyces apiculatus gemeint.

andere Pilzgattung eingeführt worden war, gebrauchten ihn verschiedene Forscher als Gattungsnamen für die Apiculatus-Hefen. So führt Kohl (1908, S. 251) die Gattung Hansenia Lindner als zweite Gattung der Familie der Saccharomycetaceae an. Guilliermond (1912, S. 292) rechnet diese Gattung ebenfalls zu den Saccharomyceten. Da Reess, Engel, Hansen, Klöcker u. a. Sporenbildung bei diesen Sproßpilzen niemals nachweisen konnten und da Lindner sie nur bei 2 Rassen beobachtet hatte, war man immer noch der Meinung, daß der Formenkreis der zugespitzten Hefen in der Hauptsache asporogene Rassen umfasse.

Auch Will (1909, S. 67) stellte die Gattung Hansenia in die Nähe der Gattung Saccharomyces, zählte sie aber nicht zu den echten, sondern zu den zweifelhaften Saccharomyceten. Die asporogenen, zugespitzten Formen rechnet er zur ersten Gruppe der Torulaceen.

Zikes (1911, S. 144) kam auf Grund ausgedehnter, aber erfolgloser Versuche, 2 Apiculatus-Stämme zur Sporulation zu bringen, zu der Folgerung, daß diese Gruppe von Sproßpilzen sporenbildende Formen, wie sie von Beijerinck und Lindner beschrieben wurden, neben asporogenen Formen umfasse. Zur Trennung dieser beiden Gruppen schlug er die Namen Hansenia und Hanseniaspora vor. Letztere Gattung stellte er zu den Saccharomyceten und rechnete dazu alle sporenbildenden Apiculatus-Hefen. — Die asporogenen Formen enthielten den Namen Hansenia.

Eingehend beschäftigte sich auch Klöcker (1910) mit der Nomenklatur dieser Organismen. Er beobachtete bei einer Saccharomyces apiculatus sehr ähnlichen Form nicht nur die Bildung endogener Sporen, sondern auch deren Keimung. Später (1913, S. 340) gab er dann eine ausführliche Beschreibung dieser als Hanseniaspora valbyensis bezeichneten Form. Ihre Zellen sind in jungen Vegetationen hauptsächlich zitronenförmig, die reifen Sporen halbkugelförmig und mit einer stärkeren oder schwächeren Leiste versehen, wodurch sie mehr oder minder „hutformig" werden. Die Keimung der Sporen erfolgt ohne vorhergehende Promyzelbildung durch Sprossung. Klöcker betrachtet Hanseniaspora als synonym mit Hansenia Lindner; diese Auffassung ist nicht berechtigt, denn die Sporen der von Lindner beschriebenen Formen waren, im Gegensatz zu denen von Hanseniaspora valbyensis, rundlich. Auch gibt Lindner ausdrücklich an, daß bei den von ihm untersuchten Formen immer nur eine Spore im Askus entsteht. Hanseniaspora Klöcker dagegen entwickelt zweisporige Aski.

Klöcker (1912, S. 375) gelang es bei verschiedenen Formen von zugespitzten Hefen trotz wiederholter Versuche nicht, diese zur Sporenbildung zu bringen. Er kam deshalb zu der Überzeugung, daß es sporogene und asporogene Formen solcher Pilze gibt. Da der Name Hansenia aus Prioritätsgründen für diese Organismen nicht mehr verwendbar war, schlug er für die asporogenen Formen den Gattungsnamen Pseudosaccharomyces vor, während er die sporogenen Formen zur Gattung Hanseniaspora rechnet. Die Gattung Pseudosaccharomyces gehörte demnach zur Familie Torulaceae.

Will (1916 a, S. 289) beschrieb die beiden von ihm untersuchten zugespitzten Hefen unter dem Namen Pseudosaccharomyces. Noch in demselben Jahre (1916 b, S. 247) erklärt er aber, daß diese asporogenen Formen so viel Übereinstimmung mit der von ihm aufgestellten Gattung Eutorula hätten, daß sie bei dieser Gattung eingeordnet werden müßten.

Janke (1923, S. 310) macht später darauf aufmerksam, daß der Gattungsname Pseudosaccharomyces von Briosi und Farneti schon im Jahre 1906 für einen anderen Pilz vergeben worden war. Der von Klöcker vorgeschlagene Name konnte deshalb aus Prioritätsgründen nicht beibehalten werden. Um diesen Schwierigkeiten zu entgehen und Klarheit in das Namenschaos zu bringen, schlug er den Gattungsnamen Klöckeria für alle nicht sporenbildenden Arten dieser Pilzgruppe vor. Später (1928) änderte er diesen Namen in Kloeckera ab.

Nach Kufferath (1929, S. 231 und 234) gehören die zugespitzten Hefen zu den sporenbildenden Sproßpilzen. Er unterscheidet nach der Zahl der im Askus gebildeten Sporen 2 Gattungen. Die Formen mit einsporigen Aski rechnet er zur Gattung Pseudesaccharomyces Klöcker, die mit 2 Sporen zur Gattung Hanseniaspora Zikes.

Die neuerdings von Dekker (1931, S. 484) gegebene Umgrenzung der Gattung Hanseniaspora scheint mir nicht ganz klar zu sein. Aber auch sie rechnet

zur Gattung Hanseniaspora nur Formen mit „hutförmigen" Sporen (s. S. 489: „Sporen anfangs kugelig, später hutförmig, was aber nicht immer deutlich ist").

Durch meine Untersuchungen ist endgültig klargestellt worden, daß zahlreiche Rassen von zugespitzten Hefen Sporen bilden. Ich konnte nicht nur Kerne in den Sporen nachweisen, sondern habe bei Hunderten von Sporen die Keimung unter dem Mikroskop beobachten können. Es kann deshalb gar keinem Zweifel mehr unterliegen, daß diese Organismen zu den echten Saccharomyzeten gehören.

Einer der schon bestehenden Gattungen dieser Familie können diese Sproßpilze nicht eingeordnet werden. Zwar haben sie in der Form des Promyzels gewisse Ähnlichkeiten mit der Gattung Saccharomycodes Hansen. Bei dieser Gattung können aber 2—3 Sporen bei der Auskeimung miteinander verschmelzen und ein gemeinsames Promyzel bilden. Es findet also bei der Auskeimung der Sporen eine Art Kopulation statt, was ich bei den von mir untersuchten Sproßpilzen niemals wahrnehmen konnte.

Auch in die Gattung Hanseniaspora können sie nicht eingereiht werden, da sie sich in der Form ihrer Sporen und deren Keimung wesentlich von dieser Gattung unterscheiden.

Es bleibt deshalb nichts anderes übrig, als eine neue Gattung der Saccharomycetaceae aufzustellen. Für diese Gattung möchte ich die Bezeichnung Kloeckeraspora vorschlagen. Diese neue Gattung entspricht also der Gattung Kloeckera Janke und unterscheidet sich von dieser nur durch die Fähigkeit ihrer Vertreter, Sporen zu bilden. Die Gattung Kloeckeraspora steht zur Gattung Kloeckera im selben Verhältnis wie die Gattung Saccharomyces zur Gattung Torulopsis. Nach den Untersuchungen von Kufferath gehört wahrscheinlich auch die Art Kloeckera apiculata zu dieser Gattung.

Nach meinen Versuchen unterscheidet sich Rasse 1 wesentlich von allen anderen von mir untersuchten Rassen von zugespitzten Hefen. Die Unterschiede sind so groß, daß Rasse 1 nicht mit den übrigen zu einer Art vereinigt werden kann. Da die Widerstandsfähigkeit gegen hohe Zuckerkonzentrationen für Rasse 1 besonders kennzeichnend ist, nenne ich sie Kloeckeraspora osmophila. Alle übrigen Rassen sind einander sehr ähnlich. Ich fasse sie deshalb alle in einer Art zusammen unter dem Namen Kloeckeraspora uvarum.

Gattung Kloeckeraspora nov. gen. Fam. Saccharomycetaceae (Ascomycetes): Sproßzellen entweder zitronenförmig infolge polarer Zuspitzung oder ellipsoid. Die runden oder sehr kurz ellipsoiden Sporen entstehen einzeln, nur ganz ausnahmsweise zu zweien im Askus. Sie keimen ohne vorhergehende Kopulation unter Promyzelbildung. Hautbildung auf Flüssigkeiten sehr schwach.

Kloeckeraspora osmophila nov. sp. (Rasse 1).

Zugespitzte Sproßzellen kurz und dick, 10,5—11 × 4—4,5 μ, die anderen kurz ellipsoid. In Most, Würze und anderen Flüssigkeiten wird nach einigen Tagen ein fester, schleimiger Bodensatz gebildet.

Haut- und Ringbildung bei 25° C: Auf Traubenmost nach 8 Wochen keine Haut, nur ein schwacher Ring; auf Würze nach 8 Wochen vereinzelte Hautinselchen, Ring etwas stärker; auf Hefewasser und Hefewasser mit Essigsäure nach 13 Wochen weder Haut noch Ring. Zellen in den Hautinselchen ellipsoid oder zugespitzt, dazwischen viele große, aus lang-zylindrischen Zellen bestehende Sproßverbände. Einzelkolonien auf Würze-Gelatine maulbeerförmig.

Riesenkolonien: Auf Traubenmost-Gelatine nach 6 Wochen bei 25° C viel kleiner als auf Würze-Gelatine, nur 1,2 cm im Durchmesser. Zentrum tief eingesunken, mit schmalem Wall. Oberfläche matt, durch radiale Furchen in mehrere schmale Sektoren aufgeteilt, die am Rande wieder in kleinere Lappen zerfallen, mit deutlichen konzentrischen Ringen. Umriß der Kolonie ziemlich regelmäßig rund, Rand schwach eingebuchtet. Unter der zentralen Partie viele Anhänge. Zellen von verschiedener Form, zitronenförmig, lang und kurz ellipsoid, einzeln oder in kleinen Verbänden, fadenförmig und rund, in den Anhängen meist länglich zylindrisch.

Auf Würze-Gelatine nach 6 Wochen bei 25° C 3,2 cm im Durchmesser, verhältnismäßig eben, ohne besondere zentrale Partie und Wall, mit mehreren großen Sektoren, die am Rande wiederum in kleinere Lappen aufgeteilt sind. Rand etwas unregelmäßig und grob gekerbt. Oberfläche trocken, matt. Unterseits mit unregelmäßig verteilten vereinzelten Anhängen, keine Verflüssigung der Gelatine. Zellformen wie auf Traubenmost-Gelatine.

Stichkulturen in Würze-Gelatine: Entwicklung oben stark, nach unten zu schwächer, von 3,5 cm Tiefe an kein Wachstum mehr. Zellen lang zylindrisch. Optimale Temperatur für die Sporenbildung auf Gipsblöckchen in der Nähe von 25° C.

Vergoren werden Glukose, Fruktose und Mannose.

In Traubenmost mit 115 g/l Zucker werden 45 g/l Alkohol erzeugt. Kann in Hefewasser mit 624,6 g/l Zucker noch Gärung verursachen; in solchem mit 600,1 g/l Zucker werden innerhalb 52 Tagen 39 g/l Alkohol gebildet.

Essigsäure wird nur sehr schwach assimiliert, Wein-, Äpfel-, Bernstein-, Zitronen- und Milchsäure gar nicht.

Widerstandsfähigkeit gegen organische Säuren in Hefewasser: Wachstum erfolgt noch bei Anwesenheit von 28,5 g/l Weinsäure, 65,0 g/l Äpfelsäure, 53,6 g/l Zitronensäure und 5,9 g/l Essigsäure.

Entwickelt sich noch schwach bei einer Konzentration von 30,5 g/l Äthylalkohol in gezuckertem Hefewasser.

Maximale Temperaturgrenze für das Wachstum in Traubenmost und Hefewasser zwischen 34,5 und 35,5° C. Abtötungstemperatur bei halbstündiger Erwärmung in Traubenmost zwischen 46 und 48° C, in destilliertem Wasser bei 46° C.

Kloeckera spora uvarum

(Rassen 8, 10, 52, 71, 73, 78, 82, 85, 99, 100, 110, 115, 127, 136, 149 und 154).

Gruppe A: Form der zugespitzten Zellen kurz und dick, Zuspitzungen kurz. Die Länge der zitronenförmigen Zellen schwankt zwischen 6 und 8 μ, die Dicke zwischen 3 und 4,5 μ. Rassen 8, 52, 71, 73, 82, 85, 99, 100, 110, 115, 127, 136 und 149.

Gruppe B: Form der zugespitzten und ellipsoiden Zellen mehr länglich, schmal, Länge der zugespitzten Zellen 12—15 μ, Dicke 3—3,5 μ. Rassen 10, 78 und 154.

Den beiden Gruppen sind folgende Eigenschaften gemeinsam: Bodensatz sehr locker, staubig oder etwas körnig. Haut- und Ringbildung bei 25° C: Auf Traubenmost nach 12 Wochen große vereinzelte Inseln von grauweißer Farbe und trockener Oberflächenbeschaffenheit. Ringbildung sehr schwach. Hautzellen ellipsoid bis kurz oder lang zugespitzt, auch viele lange zylindrische Zellen vorhanden, aber keine Sproßverbände.

Auf Würze nach 12 Wochen: Haut sehr schwach entwickelt, nur ganz kleine Inselchen vorhanden. Ringbildung sehr schwach. Zellformen ähnlich wie auf Traubenmost, doch fehlen zylindrische Zellen.

Auf Hefewasser und Hefewasser mit Zusatz von Essigsäure: nach 13 Wochen. Häute dünn, aber über die ganze Oberfläche verbreitet, grauweiß und trocken. Zellen meist ellipsoid und zitronenförmig; verzweigte, aus ellipsoiden Zellen bestehende Sproßverbände vorhanden, mitunter auch Kronenbildung. Einzelkolonien auf Würze-Gelatine maulbeerförmig.

Riesenkolonien nach 6 Wochen bei 25° C. Traubenmost-Gelatine wird sehr rasch verflüssigt. Kolonien auf Würze-Gelatine sehr einfach gestaltet, flach, ohne besondere Merkmale. Die Kolonien wachsen fast nicht in die Gelatine hinein, sondern breiten sich an der Oberfläche aus. Anhänge der Unterseite sehr schwach. Umriß der Kolonien ziemlich regelmäßig, Ränder mehr oder weniger stark gekerbt.

Stichkulturen in Würze-Gelatine: Entwicklung oben stark, nach unten zu schwächer, von 3,5 cm Tiefe an kein Wachstum mehr. Zellen ellipsoid und zugespitzt. Optimale Temperatur für die Sporenbildung auf Gipsblöckchen in der Nähe von 25° C. Vergoren werden nur Glukose, Fruktose und Mannose. In Traubenmost mit 115 g/l Zucker werden 5,0—14,6 g/l Alkohol gebildet. In Hefewasser mit 624,6 g/l Zucker

nur noch sehr schwache Entwicklung, keine Gärung mehr. In Hefewasser mit 503,3 g/l Zucker wird bis 27,5 g/l Alkohol gebildet. Essigsäure wird stark assimiliert, Wein-, Äpfel-, Bernstein-, Zitronen- und Milchsäure gar nicht.

Widerstandsfähigkeit gegen organische Säuren: In Hefewasser noch Wachstum bei Anwesenheit von 46,0—35,5 g/l Weinsäure, 92,0—65,2 g/l Äpfelsäure, 61,6 g/l Zitronensäure und 5,9 g/l Essigsäure.

Widerstandsfähigkeit gegen Äthylalkohol in gezuckertem Hefewasser: Noch schwache Entwicklung bei Konzentrationen von 37,8—40,8 g/l Alkohol. In Traubenmost noch schwach bei 30,9 g/l, aber nicht mehr bei 36,7 g/l Alkohol. Maximale Temperaturgrenze für das Wachstum in Traubenmost und Hefewasser zwischen 35,5 und 36,5° C.

Abtötungstemperaturen bei halbstündigem Erhitzen in Traubenmost 44—46° C, in destilliertem Wasser 46—48° C, nur bei Rasse 136 52° C.

Zusammenfassung.

Die zugespitzten Hefen sind auf Weinbeeren in allen europäischen Weinbauländern weit verbreitet. Auch auf Obstfrüchten kommen sie sehr häufig vor. Ebenso konnten sie in Proben von Weinbergböden nachgewiesen werden, die im Winter in Südafrika entnommen wurden. Auf unreifen Weinbeeren wurden sie niemals angetroffen.

Von den untersuchten 81 Rassen bildeten 79 auf Gipsblöckchen bei 25° C Sporen, eine Rasse konnte in keiner Weise zur Sporenbildung gebracht werden, eine andere (K. osmophila) bildete nur auf alkalischem Würzeagar Sporen. Fast immer bildet sich eine Spore im Askus, nur ausnahmsweise entstehen darin 2 Sporen. Die Sporen sind rund bis kurz-ellipsoid und haben einen Durchmesser von 3—3,5 μ (K. osmophila) bzw. 2,5 bis 3,2 μ (K. uvarum). Bei der Sporenkeimung wird zunächst ein Promyzel gebildet. Die am Ende des Promyzels entstandenen Tochterzellen sind immer ellipsoid. Das Vermögen zur Sporenbildung geht bei allen Rassen sehr rasch verloren. Da die von mir untersuchten zugespitzten Hefen also Askosporen bilden, müssen sie zur Familie der Saccharomycetaceae gerechnet werden. Da die Gattung Kloeckera nur asporogene zugespitzte Sproßpilze umfaßt, und die verschiedenen Gattungen der Saccharomycetaceae aus anderen Gründen nicht in Frage kommen, wird die Aufstellung einer neuen Gattung Kloeckeraspora für diese zugespitzten einsporigen Sproßpilze vorgeschlagen und es werden 2 neue Arten aufgestellt: K. osmophila und K. uvarum.

Eine kurze Beschreibung dieser Arten findet sich auf S. 145—147. Morphologisch bieten diese Hefen keine bemerkenswerten Unterscheidungsmerkmale. Die Beobachtung der Sprossung im Traubenmost ergab, daß die jungen Zellen zunächst ellipsoid sind, und daß die ellipsoiden Zellen erst nach wiederholter Sprossung die typische „Zitronenform" annehmen. Alle untersuchten Rassen erwiesen sich als verhältnismäßig gärschwach, Lüftung während der Gärung erhöht Gärungsenergie und Gärvermögen. Während der Gärung wird verhältnismäßig viel flüchtige Säure erzeugt. Mit Zunahme des Zuckergehaltes einer Nährlösung steigt die Menge der gebildeten flüchtigen Säure. Ebenso begünstigt bei K. uvarum Lüftung die Bildung flüchtiger Säure, während bei K. osmophila in gelüfteten Nährflüssigkeiten weniger flüchtige Säure entsteht. Glukoselösungen werden gleich stark vergoren wie Fruktoselösungen. Bei der Gärung entstehen in allen Fällen sehr unangenehm riechende Bukettstoffe.

Äthylalkohol wird von allen Rassen in Hefewasser in wesentlich höheren Konzentrationen vertragen als in Traubenmost. Gegenüber schwefliger

Säure ist K. osmophila widerstandsfähiger als die verschiedenen Rassen von K. uvarum. Nicht nur die freie, sondern auch die gebundene schweflige Säure übt eine hemmende Wirkung auf die Entwicklung dieser Organismen aus.

Gelatine wird von beiden Arten ziemlich rasch verflüssigt. Glukosehaltige Gelatine-Nährböden werden schneller verflüssigt als solche, die Saccharose oder Maltose enthalten. K. uvarum verflüssigt optimal bei saurer, K. osmophila bei alkalischer Reaktion.

Literaturverzeichnis.

Amthor, C., a) Studien über reine Hefen. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 12. 1888. S. 68; b) Über den Saccharomyces apiculatus. (Ebenda, S. 558.) — Behrens, W., Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. 3. Aufl. Leipzig 1898. S. 65. — Beijerinck, M. W., Über Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen, wo diese Funktion im Verschwinden begriffen ist. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 4. 1898. S. 657—721.); L'Auxanographie. Verzamelde geschriften van M. W. Beijerinck, Teil II. Delft 1921. S. 190; Proteolytische Erscheinungen bei Alkoholhefen. (Ebenda, Teil III. Delft 1921. S. 266.) — Dernby, K. G., Studien über die proteolytischen Enzyme der Hefe und ihre Beziehung zu der Autolyse. (Biochem. Ztschr. Bd. 81. 1917. S. 107.) — Engel, E., a) Etude morphologique des diverses espèces de levûres alcooliques. (Compt. rend. de L'Acad. de Paris. Bd. 74. 1872. S. 468; b) Les fermentes alcooliques, études morphologiques. Paris 1872. — Fischer, E., und Thierfelder, H., Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefen. (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 2. 1894. S. 2031.) — Guilliermond, A., Les levûres. Paris 1912. — Hansen, E. C., Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12. 1904. S. 529); Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen. Jena 1911. — Janke, A., Zur Nomenklatur der „Saccharomyces apiculatus"-Formen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 59. 1923. S. 310; Bd. 76. 1928. S. 161.) — Janke, A., und Holzer, H., Probleme des Stickstoffkreislaufes. 2. Mitteilung. (Biochem. Ztschr. Bd. 266. 1930. S. 234.) — Korp, W., Über die schweflige Säure in Wein. 2 Abhandl., Sonderdruck a. d. Ber. d. Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. 21. Heft 2. 1904. S. 18.) — Klöcker, A., Invertin und Sporenbildung bei Saccharomyces apiculatus-Formen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. 1910. S. 513); Beschreibungen von 17 Saccharomyces apiculatus-Formen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912. S. 375); Recherches sur 17 Formes du „Saccharomyces apiculatus". (Compt. rend. des Trav. du Labor. de Carlsberg. Vol. 10. 1913); Chronologische Zusammenstellung der Arbeiten über Saccharomyces apiculatus von 1870 bis 1912. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 43. 1915. S. 369); Die Gärungsorganismen. 3. Aufl. Berlin 1924. — Kohl, F. G., Die Hefepilze. Leipzig 1908. — Korff, G., Einfluß des Sauerstoffs auf Gärung, Gärungsenergie und Vermehrungsvermögen verschiedener Hefe-Rassen unter verschiedenen Ernährungsbedingungen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 4. 1898. S. 465, 501, 529, 561 u. 616.) — Kroemer, K., und Krumbholz, G., Untersuchungen über osmophile Sproßpilze. 1. Mitt. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 2. 1931. S. 352.) — Krumbholz, G., Ebenda. 2. Mitt. S. 411. — Kufferath, H., A propos des spores du Pseudosaccharomyces apiculatus (Reess-Hansen) Klöcker. (Ann. de la Brasserie et de la Distillerie. T. 27. 1928/29. p. 177, 194, 210—231.) — Lindner, P., Gärversuche mit verschiedenen Hefen und Zuckerarten. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 17. 1900. S. 713); Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3. Aufl. Berlin 1901; Sporenbildung bei Saccharomyces apiculatus. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 20. 1903. S. 505); Neue Erfahrungen aus dem letzten Jahre in bezug auf Hefe und Gärung. (Jahresber. d. Versuchs- u. Lehranst. f. Brauerei i. Berlin. Bd. 7. 1904. S. 441); Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 6. Aufl. Berlin 1930. — Meissner, R., Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung und Reinzüchtung der am häufigsten in Most und Wein vorkommenden Pilze. Stuttgart 1901; Technische Betriebskontrolle im Weinfach. Stuttgart 1920. — Müller-Thurgau, H., Einfluß der schwefligen Säure auf die Gärung. (Jahresber. d. Schweiz. Versuchsanst. i. Wädenswil. 1898. S. 56); Einfluß der zugespitzten Hefen auf die Gärung der Obst- und Traubenweine. (Ebenda, 1899. S. 51); Saccharomyces

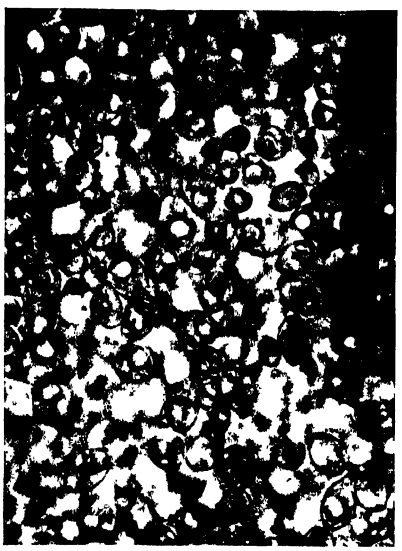


Fig. 1

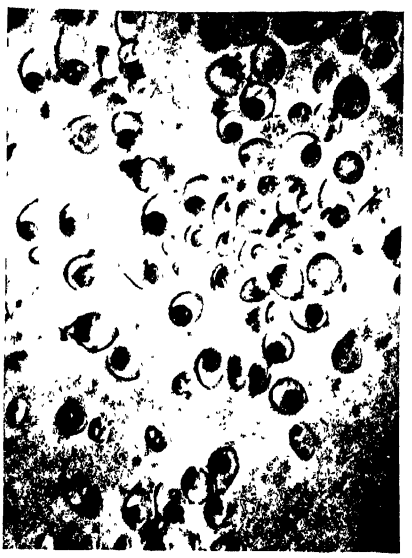


Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

Verlag von Gustav Fischer in Jena

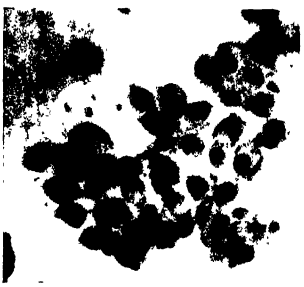


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 7

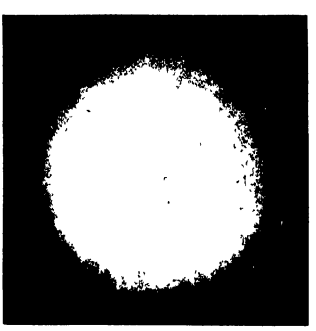


Fig. 8

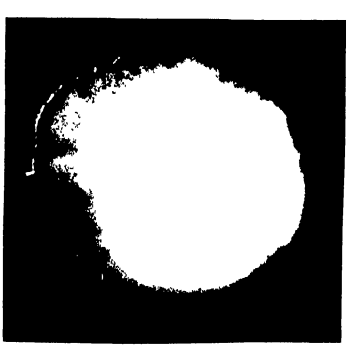


Fig. 9

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Fig. 1

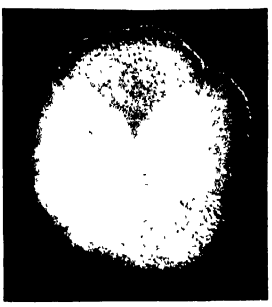


Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

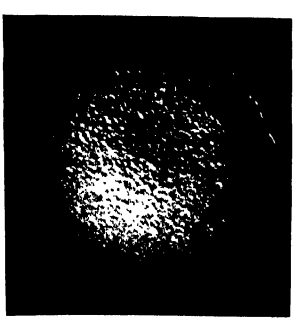


Fig. 5

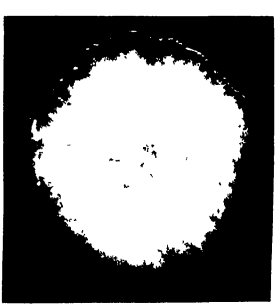


Fig. 6

Verlag von Gustav Fischer in Jena

apiculatus in: Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. 4. Jena 1907. S. 315. — Müller-Thurgau, H., und Osterwalder, A., Einfluß der schwefligen Säure auf die durch Hefen und Bakterien verursachten Gärungsvorgänge im Wein und Obstwein. (Landwirtschaftl. Jahresber. d. Schweiz. 1914. S. 480.) — Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. 5. Aufl. Leipzig 1926. — Osterwalder, A., Die Zersetzung von Äpfelsäure durch verschiedene aus Obst- und Traubenweinen gewonnene Saccharomyces-Arten und -Rassen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 67. 1926. S. 289.) — Pasteur, L., Etudes sur la bière. Paris 1876. S. 148. — Reess, M., Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärpilze. Leipzig 1870. — Ripper, M., und Wohack, F., Die Mikroanalyse des Weines. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswes. i. Österreich. Bd. 20. 1917. S. 102.) — Röhling, A., Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen der Saccharomyces apiculatus. Diss. Erlangen 1905. — Rost, E., und Franz, F., Die schweflige Säure und ihre Verbindungen mit Aldehyden und Ketonen. (Sonderdruck a. d. Ber. d. Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. 21. Heft 2. 1904. S. 172.) — Schukow, I., Über den Säureverbrauch der Hefen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896. S. 601.) — Seiss, C., Einfluß der im Most gelösten Luft, des Wasserstoffs und der Kohlensaure auf Wachstum und Gärtätigkeit von Sacc. ellipsoideus und Sacc. apiculatus. (Ber. d. Kgl. Lehranst. zu Geisenheim. 1907. S. 381.) — Sémichon, L., Action d'alcool sur les microorganismes des raisins. (Revue de Vitic. Bd. 65. 1926. p. 43.) — Stelling-Dekker, N. M., Beiträge zu einer Monographie der Hefearten. Teil 1: Die sporogenen Hefen. Amsterdam 1931. — Tischler, G., Handbuch der Pflanzenanatomie. Bd. 2: Allgemeine Pflanzenkaryologie. Berlin 1921/22. — von der Heide, R., Über die Bildung abnormer Mengen flüchtiger Säuren durch Hefen in zuckerreichen vergorenen Mosten. (Ber. d. Kgl. Lehranst. zu Geisenheim. 1907. S. 254.) — von der Heide, C., und Schmitthenner, F., Der Wein. Braunschweig 1922. — von Laer, H., Rapports de l'oxygène avec la levûre. (Bull. d. l'assoc. belge d. Chemists. 1893/94. S. 100.) — von Lippmann, E. O., Chemie der Zuckerarten. 2. Aufl. Braunschweig 1895. — Will, H., Studien über die Proteolyse der Hefen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. S. 794); Anleitung zur biologischen Untersuchung und Begutachtung von Bierwürze, Bierhefe, Bier und Brauwasser, zur Betriebskontrolle sowie zur Hefereinzucht. München und Berlin 1909; a) Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen an vier Kulturen der Gattung Pseudosaccharomyces Klöcker. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 44. 1916. S. 223); b) Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. (Ebenda, Bd. 46. 1916. S. 247); Die Grenztemperaturen für die Vermehrungs- und Lebensfähigkeit der Saccharomyceten und die bei diesen auftretenden Zellgrößen als diagnostisches Merkmal. (Ebenda, Bd. 55. 1922. S. 465.) — Windisch, K., In Röttgers Nahrungsmittelchemie. 5. Aufl. Leipzig 1926. S. 2033. — Zikes, H., Zur Nomenklaturfrage der Apiculatus-Hefen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 30. 1911. S. 144.) — Zopf, W., Zur Kenntnis der anatomischen Anpassung der Sporenentleerung. (Ztschr. f. Naturw. Bd. 56. 1883. S. 539.)

Tafelerklärung.

Tafel 1.

Asci mit reifen Sporen von Gipsblockkulturen, nach 3 Tagen bei 25° C. Vergr. 840mal.

Fig. 1 Rasse 73.
Fig. 2 Rasse 127.
Fig. 3 Rasse 136.
Fig. 4 Rasse 154.

Tafel 2.

Fig. 1. Rasse 73. Zellen mit jungen Sporenanlagen, Kernfärbung mit Eisen-Hämatoxylin nach Heidenhain. Vergr. 840mal.
Fig. 2—5. Verschiedene Stadien der Sporenkeimung. Vergr. 1680mal.
Fig. 6—9. Riesenkolonien bei 20° C.
Fig. 6. Rasse 1, auf Most-Gelatine nach 42 Tagen. Vergr. 5mal.
Fig. 7. Rasse 1, auf Würze-Gelatine nach 42 Tagen. Vergr. 2,5mal.
Fig. 8. Rasse 73, auf Würze-Gelatine nach 28 Tagen. Vergr. 2,5mal.
Fig. 9. Rasse 10, auf Würze-Gelatine nach 42 Tagen. Vergr. 5mal.

Tafel 3.

Riesenkolonien auf Würze-Gelatine bei 20° C. Vergr. 2,5mal.
Fig. 1. Rasse 82, nach 28 Tagen.
Fig. 2. Rasse 85, nach 28 Tagen.
Fig. 3. Rasse 127, nach 42 Tagen.
Fig. 4. Rasse 136, nach 28 Tagen.
Fig. 5. Rasse 115, nach 28 Tagen.
Fig. 6. Rasse 78, nach 21 Tagen.

Nachdruck verboten.

A Contribution to the Physiology of Bacteria Fermenting Urea.

[Research Institute of Fertilizers and Soil Science, Moscow.]

By **E. N. Mischoustin.**

I.

The Basic Principles of the Bacteriological Soil Analysis.

Soil microbiologists elaborating various methods for the estimation of economic value of soils fixed upon two methods which are more or less in vogue nowadays. One of them — the method of microbiological reactions existing in several variations is based on the record of the summary effect on a substance brought into the soil which is caused by a series of bacteria belonging mostly to vast physiological groups.

At the present time, however, the ever increasing attention of microbiologists is drawn by the method of the individualized investigation of soil microbes which makes it possible on the basis of discovery of, so to say, an indicative organism to judge about the character of the given soil. We know, as a matter of fact, that the character of flora is closely connected with the physicochemical peculiarities of the soil. We can suppose that the microbial soil population must also reflect the nature of the soil. This proposition is already justified by the experience obtained f. i. through the study of Azotobacter's distribution, and if at the present time microbiologists had a series of similar indicative organisms, this could be of greatest importance for practical agriculture, not to mention pure scientific prospects arisen by this possibility.

Thus a more profound treatment of single organisms or of their narrow physiological groups enables us to conduct phyto-sociological investigations of the bacterial soil population with all the practical inferences resulting from the latter.

Without exaggerating the significance of the quantitative record of soil bacteria, which is overestimated by some investigators, we suppose at the same time that the overmentioned profound analysis of single forms of soil bacteria shall have a great importance in future.

The development of this analysis is chiefly prevented by the unsufficient knowledge of the physiology of soil bacteria. Probable is, that if we succeeded to divide vast physiological groups of denitrifying, urea decomposing and other bacteria into small and specific groups, many of them could be employed as indicative organisms for the characterisation of separate soil types.

The experiment with the group of urea-decomposing bacteria proved the considerations mentioned above. A series of preliminary trials showed that soils with diverse characteristics contain microflora extremely different in their relation to carbonaceous as well as nitrogeneous sources of nutrition.

For these experiments a series of synthetic nutritive media containing urea and various sources of carbonaceous nutrition were composed. The media were inoculated with bits of soil under analysis, the enrichment of the medium with specific bacterial forms proceeded during several days. After that in order to get rid of the influence of organic substance brought into the soil together with the experimental material the resowing on an analogous medium was excecuted. The bacterial development on the latter made it possible to decide finally whether microorganisms able to develop on the tested medium are present in the soil samples under analysis.

The results of these investigations shall be published later. At the present time we point out only that similar analyses showed in a number of cases the presence in certain soils of urea-decomposing bacteria, assimilating intensively as carbonaceous nutrition the salts of organic acids, and rather inertly sugars. This observation prompted a more detailed analysis of the respective bacteria, the results of which are being published in the present work. Thus we consider this investigation as a part of a more widely conceived work.

The Occurence of Urea and Urea-decomposing bacteria in Nature.

We must point out the circumstances which compelled us to dwell on the group of bacteria decomposing urea. This was done firstly, because it is comparatively easy to compose elective media for these bacteria developing satisfactorily at alkaline reaction, and secondly, taking into consideration, that these bacteria are widely distributed in soil. This is quite comprehensible since it was proved lately that urea plays a much more important part in vegetable kingdom than supposed formerly. Until lately dominated the point of view that urea is a product proper only to animal organism but the introduction of more refined analysis-methods in biochemistry forced us to reject this opinion. Now it is established that urea is present in lower as well as in higher plants. It is true, the latter possess urea in small quantities but this circumstance may probably be accounted for by the fact that urea is absorbed too rapidly at synthetic processes. Fungi, on the contrary, accumulate a considerable quantity of urea often amounting to 10 and more per cent of the dry weight of plants tissues. Experiments conducted by Prof. I v a n o w [1] ascertained the ways of the accumulation of urea in lower plants. According to his observations, urea which can readily be used for the composition of arginine, histidine and purine bases serves as a nutritive supply for lower plants, analogous to asparagine and glutamine in higher plants. Urea of fungi can, firstly, be synthetized from ammonia derived both from the autolysis of albumenoid-tissues and from albumen introduced from without, and, secondly, by decomposition of the nitrogenous compounds liberating urea, when decomposing urea. Also moulds and certain bacteria free from urease may at the decomposition of arginine gather a definite quantity of urea on the substrata. Some bacteria decomposing albumen form urea besides of other products of decomposition. If the bacterial growth stimulates the appearance of urease, urea decomposes into ammonia.

Thus it is not difficult to observe that urea in natural conditions occurs exceedingly often in soil, and therefore bacteria decomposing urea must be considered as autochthonous soil-microflora.

The Principal Informations on the Physiology of Bacteria Decomposing Urea.

Although at the present time many races of uro-bacteria have been described, their investigation embraces only their morphological peculiarities. This brought certain difficulties in diagnosis and led to the creation of a series of pseudotypes. Viehoever f. i. after a more detailed examination of spore forming uro-bacteria found it possible to unite about 10 original species into one form named by him Bac. probatus. From the main works on the physiology of bacteria decomposing urea we point out the following (in chronological order):

1. Van Jaksch (1881) [2] was the first who paid attention to the biochemical characteristics of bacteria decomposing urea. Working, in all probability, with an unpure culture he established that for the species indicated by him ("Torula ammoniacale") urea could serve as the source for both nitrogenous and carbonaceous nutrition. The salts of organic acids, amino-acid, peptone and createnine were very well assimilated by these bacteria, the last compounds being at the same time the sources of nitrogen. Ammonia-salts of formic, oxalic and acetic acids were altogether not assimilated by these bacteria.

2. Beijerinck (1901) [3] discovered in his work that the decomposition of urea proceeded energetically enough on a medium containing 5 p. c. of urea, 1 p. c. of oxalic-acid-ammonium and 0.025 p. c. KH_2PO_4, and inoculated with soil. Succesfully was the development on the salts of apple-citric and other acids. A growth of bacteria may also be recorded in the presence of salts of acetic acid. Beijerinck [3] indicates that if an enriched culture is raised on a medium composed of urea, phosphate calcium and tap water the development usually does not take place if other substances containing carbon are not added.

The pure culture of Urobacillus Pasteurii, isolated by Beijerinck from soil, does not use urea, meat-peptonic broth and peptone as nitrogenous sources of nutrition. Neither development nor decomposition was observed on asparagine combined with glucose. Thus with regard to their nutrition this bacterium is a very specialized variety. It must be noted that this bacterium does not develop on the medium described above containing $(NH_4)_2C_2O_4$.

Of the results derived from Beijerinck's works, however, we can observe that in all probability, certain bacteria (in an enriched culture) may use oxalic, acetic and other acids as nutrition.

3. Bieremas (1909) [4] discovered that in mixed cultures of uro-bacteria on media containing albumen, urea was decomposed energetically when mannite, maltose and glucose were used as carbonaceous sources. Lactose (milk-sugar) dextrine and lactic acid calcium have also a favourable influence upon this process. Less succesfull were glycerin and saccharose (cane sugar).

4. Söhngen (1909) [5] fullfilled the enrichment of uro-bacteria on a synthetic medium with salts of organic acids (the basic compound of this medium — 0.025 p. c. K_2HPO_4 and tap water with 5 p. c. of urea) establishing that similar media enable a comparatively good development of bacteria

decomposing urea. The compounds referred to are required since urea is not a satisfactory source of carbonaceous nutrition.

Experiments conducted with a pure culture of Bac. erythrogenes and the race newly described Urobac. Jakschii showed that these bacteria assimilate both carbo-hydrates and salts of organic acids.

5. Christensen (1910)[6] who isolated a series of uro-bacterial cultures obtained, contrary to Söhngen, results showing that many bacteria assimilate badly highly-molecular compounds containing carbon (glucose, mannite etc.) on a medium with the presence of urea. He conducted his experiments of enrichment on a medium containing 2 p. c. of urea, 1 p. c. of K_2HPO_4, a certain quantity of $CaCO_3$, traces of $MgSO_4$ and $FeSO_4$. At the inoculation of this medium with a fermenting liquid, urea was decomposed exceedingly slowly in 50—60 days. However, after the addition of glucose or amino-acid potassium the decomposition proceeded extremely energetically. Thus for mixed cultures glucose was of a stimulating influence, whereas pure cultures gave a somewhat different result. Pure cultures (α) raised on the medium mentioned above were decomposing urea exceedingly slowly in the absence of other organic substances and rather badly when glucose, mannite, xylose and organic acids were present. Succesfully was the decomposition going on when amino-acid potassium was added. The addition of asparagine, peptone or meat-extract urged a good development.

Reviewing the foregoing material we may suppose that in the first part of the experiments described above we gave no sufficiently good nitrogenous nutrition for the bacterial raising, which impeded the development of bacteria on sugars and organic acids. The addition of amino-acid which doubtless contains organic nitrogen stimulates an outbreak of bacterial growth. Thus from these experiments we can draw no conclusion about the low nutritive value of glucose and organic compounds for certain uro-bacteria.

The pure culture of Urobac. Beijerinckii described by Christensen was able to develop on a mineral medium with urea alone. Probably in this case the medium was sterilized through heatening which hydrolized a part of urea. Thus from these data it may be deduced only that Urobac. Beijerinckii assimilates urea as a C-source, whilst it is difficult to say whether these bacteria can develop on urea free from ammonia. Therefore the usual indication that Urobac. Beijerinckii develop on urea alone must be accepted but critically.

6. Viehoever (1913)[7] who investigated Bac. probatus, which race he identified with a series of other spore-forming uro-bacteria, proved that this microorganism like the autotrophic bacteria can live feeding on nitrogen, as well as carbon taken exclusively from mineral compounds, in this case from $(NH\ 4)_2CO_3$. The addition of organic substances, more easily adopted, intensified the development considerably.

On the whole, it must be emphasized that many of Viehoever's inferences are so difficult to link that we have to look for methodological errors in many of his experiments. So f. i. according to his data Bac. probatus does not develop on unhydrolized urea as well as on leucine, asparagine and on many other compounds containing the group NH_2. Thus we could assume that these substances are unfit to serve only as nitrogenous sources. The carbon entering these compounds should, seemingly, be adapted since it is employed even from carbonates.

In Viehoever's experiments, however, Bac. probatus begins to develop when dextrose is added to urea, i. e. urea serves in this case as a nitrogenous composition. Another instance: a medium is prepared in which organic matters are represented only by urea and asparagine, which taken separately can not be assimilated. The concurrent presence of these organic matters stimulates a comparatively effective development of these cultures. The same effect exerts the addition of sulphuric-acid-amonium to asparagine. We could point out a number of such examples. It is regretfull, that the methods of sterilization of urea, carbon-acid-ammonium and other substances are not described in this work. Perhaps in a series of tests, a desinfection of an increased pressure was applied, resulting into a hydrolysis of compounds and the formation of ammonia. Summing up we can, however, conclude from this work that certain uro-bacteria assimilate with difficulty the group NH_2 from organic compounds.

7. In 1925 L. Rubentschik[8] published the results of his observations with several uro-bacteria. He cultivated them on a mineral medium containing 5 p. c. of urea, sterilized in crystals at 106° and 1 p. c. of various compounds containing carbon. For the most part on these media the bacteria developed so inertly that no noticeable turbidity could be marked. None the less we may denote that on carbo-hydrates and on many atomed alkohol the development proceeded in many cases less successfully than on salts of organic acids. Unfortunately, the absence of a check of the media for significance pH able to be of a decisive moment even at slight variations, in the case of a medium unfavourable for the bacterial development prevents to put our statement categorically.

Nevertheless, summing up the contradictory results of the works mentioned above, we may assert that separate uro-bacteria differ greatly in their requirements towards various sources of nutrition. Bearing in mind this fact, we attempted to characterize more profoundly separate groups of soil bacteria decomposing urea with regard to their physiological peculiariaties.

The Isolation from soil of the Investigated uro-bacteria.

As we pointed out above our attention at the investigation was drawn by the group of bacteria, the development of which proceeded energetically on salts of organic acids and rather slowly on sugars. The enriched culture of a similar kind was obtained on a synthetic medium the basis of which was the Winogradski's medium for nitriyfing bacteria with 2 p. c. of urea and 0.5 p. c. of acetic acid sodium. 2—3 passages were required for the accumulation of bacteria able to develop sufficiently well on the medium described. In 1—2 days after the inoculation with an enriched bacterial culture a distinctly noticeable turbidity could be seen in the inoculated test-tubes, whilst on the medium where acetic acid sodium was replaced by sugars no visible development took place even in 8—10 days. The supposition that in the given case the bacterial development on the media containing carbo-hydrates was impeded by insufficient alkalescence must be rejected since the reaction on all the media was approximatly alike with the significance pH about 8. Thus already the preliminary tests showed that we had at our disposal bacteria making better use of organic acids than of sugars. Through pouring out these enriched media on alkaline meat-peptonic agar we obtained the basic working culture.

The isolated strain represents a comparatively short rod moving rather energetically. The flagellar are peritrichate.

The spore-formation is absent. The size of these rods is the following: length about 3, width about 0.5. On the bouillon the length of the cells increases sometimes twice.

Motility. Owing to the numerous peritrichate flagella the length of which exceeds that of the cells in 2.5 the bacteria move very energetically.

Staining. Gram-positive, but not quite distinct.

Requirement in oxigen. The bacteria develop only in aerobic conditions. In anaerobic conditions no development was observed during a fortnight.

Growth on agar. The deeply situated colonies are when examined under the microscope lens-shaped and of brownish colour. The superficial colonies are moist, smooth and in some cases slightly granular. The colonies when seen through the magnifying glass have a yellowish-grey shade. The edges of the colonies are even. Agar stroke — moist, palish, dirty — whitish.

Though it runs sidewards, it does not cover the whole agar surface. The edges of the stroke are locally even, but somewhere they present a wavy design, a radial streak, being observed at the crossing of the waves directed towards the stroke. The development proceeds better on the ordinary agar than the alkaline one with the addition of urea.

Agar stroke grows in a spike-shape, forming a rather large head. A dense uniform turbidity without film is formed on bouillon.

When aging bacterial cultures settle to the bottom of a test-tube, forming a mass of ropy consistence.

In gelatin non-liquefaction occurs.

On potato no visible development is observed during a long time.

On sugars gas is not formed. Also sulphurated hydrogen is not formed on albumens.

Indol-reaction slow, Catalase contained in a great amount.

Lenis divides the non-spore urobacteria described above into 3 main groups:

1. Proteus' group where the majority of investigated species is included, as f. i. Urobac. Miquelii Beij., Urobac. Schützenbergii Miquel, Urobac. Schützenbergii Cambier, Urobac. Jakschii Söhngen, Urobac. Ureae Burri etc.

2. Group of Coli-like forms.

3. Fluorescenting bacteria from which urease is proper, mostly, to the forms liquefying gelatin. Moreover some pigmentary rods, such as Bact. Orythrogenes, some races of Bact. Prodigiosum and Bact. indicum.

Our bacteria on their biochemical and cultural characteristics can be classified under no forms described previously. At the present time we are engaged in the investigation of certain varieties of urobacteria and we decided not to give a name to the bacterium in question prior to the end of this work, since it may be proved further on, that this bacterium belongs to one of the physiological races of a more vast group — we have already a sufficiently large number of pseudo-varieties. Besides many of the peculiarities of our bacterium are still not quite clear to us.

The Determination of the Amount of Acid in a Medium Necessary for the Bacterial Development.

Experiment No. 1. Although preliminary experiments have shown, that our bacteria can develop in usual media, it was nevertheless necessary, in the course of further experiments to ascertain more exactly the most favorable significance of pH for the development of this bacteria. With this purpose media of different acid-contents were prepared and inoculated. The result of this experiment is shown in table 1.

Table 1.

Period of observation	Significance of pH						
	7,15	7,38	7,7	7,9	8,0	8,4	8,7
1. Mineral medium with 0,1% $(NH_4)_2SO_4$ and 0,5% of acetic acid sodium.							
In 2 days	—	weak	+	+	++	+	+
„ 4 „	—	„	+	++	++	++	++
2. Mineral medium with 0,1% $(NH_4)_2SO_4$ and 0,5% of glucose.							
In 2 days	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 „	—	—	—	—	—	—	—
„ 6 „	—	—	—	—	—	—	—

1. The temperature of the bacterial germination 30° C.
2. + = medium turbidity of mean vigour; ++ = vigourous medium — turbidity; — = absence of development seen with the naked eye.

It is not difficult to observe that no visible bacterial development could be traced on all the media containing glucose. At the same time on media containing acetic acid sodium, already on the second day we could notice a considerable turbidity, especially on media where the significance of pH was near to 8.

As it may be concluded from this experiment this reaction is probably the optimum. Although the development is also seen at a neutral reaction it is not so intensive. At the examination under the microscope in the camera Tom-Zeiss of media containing glucose single bacteria were discovered in the field of vision. Thus this experiment showed once more that for our bacterium even acetic-acid sodium is a more valuable nutritive substance, than glucose. This fact was also confirmed by further experiments to the description of which we pass now:

The Comparison of the Nutritive Value of Different Compounds Containing Carbon.

Experiment No. 2. For further experiments with different substances containing carbon it was necessary to find out a medium, which at the development of bacteria would not change the significance of pH towards acidity since this could stop the development of our bacterium alkalophilum and could lead, especially when sugar is present to pseudo-conclusions. Therefore we chose as the basic ground for such a medium a compound being alkalized during the experiment, which was most favourable for the development of our bacterium. Taking for the basis the salt-composition of Winogradsky's medium for nitrifying bacteria, we introduced in it either urea, filtered through Chamberland's candle, or some-

times carbon-acid ammonium synthetized under sterile conditions. The presence of ammonium salts in these media was necessary, since already the first experiments have shown that unhydrolized urea by itself can not serve as a successful source of nitrogen (see table 2). Therefore in the course of further-experiments we had to add one of the salts of ammonium whenever no other nitrogeneous compounds were present in a medium. We shall indicate later on that our bacterium starts development on urea either when the salts described above are present, or at the inoculation of the medium with a high amount of cultures. The favourable influence of an abundant inoculation is in our opinion due to the fact that a considerable amount of urease, which rapidly decomposes urea is introduced together with these bacteria. However, since in our experiments the inoculation was usually performed by a small culture — amount it was necessary to introduce ammonium salts in our media in order to secure a normal bacterial development. In the experiment No. 2 described below all the media were sterilized without C-containing substances which were sterilized separately and then introduced with a pipette into the medium according to a special calculation. It may be observed that in separate cases the pH of media is subject to fluctuations which, however, are not so considerable as to influence the results of the experiment. Only oxalic acid sodium which is decomposed at sterilisation alkalizes the medium considerably.

Table 2.

Composition of the medium	Amount of Bacteria in thousands for 1 cc.				pH	
	3 days	7 days	14 days	21 days	Initial	Terminal
1. 2 p. c. of urea without salts . . .	0,0	0,0	0,0	0,0	7,9	7,9
2. 0,1 p. c. $(NH_4)_2SO_4$ C 2 p. c. of urea	500	1.200	1.170	600	7,9	8,7
3. 2 p. c. of urea with 0,5 p. c. of glucose	0,0	0,0	0,0	0,0	7,9	8.0
(4.—14. of the medium contains 2 p. c. of urea and 0,1 p. c. of $(NH_4)_2SO_4$ with different C-sources)						
4. With 0,5 p. c. of glucose	410	1.700	1.800	630	8,1	8,9
5. ,, 0,5 p. c. of cane sugar . .	770	2.500	2.110	1.080	7,9	8,8
6. ,, 0,5 p. c. of maltose	1.500	850	1.400	850	8,0	8,7
7. ,, 0,5 p. c. of glycerine . . .	640	2.360	1.150	670	7,9	8,9
8. ,, 0,5 p. c. of mannite	510	1.100	1.200	1.090	7,9	8,8
9. ,, 0,5 p. c. of wine-acid sodium	80	750	1.580	8.000	8,0	9,9
10. ,, 0,5 p. c. of oxalic-acid sod.	980	2.300	2.400	1.150	8,4	9,2
11. ,, 0,5 p. c. of acetic-acid sod.	15.400	12.800	5.300	1.500	8,0	9,1
12. ,, 0,5 p. c. of succinic-acid sod.	3.380	9.400	3.100	3.700	8,2	9,2
13. ,, 0,5 p. c. of apple-acid sodium	940	2.700	9.200	5.200	7,8	9,2
14. ,, 0,5 p. c. of citric-acid sodium	26.000	50.900	7.400	4.500	8,2	9,5

1. The experiment was conducted in Schott's retorts 50 cc. of medium being taken.

2. The temperature in the thermostate was 30°.

3. The inoculation of the media was executed by a needle from meat-peptonic agar.

We must bear in mind that urea decomposes at the beginning of the bacterial development and the reaction is everywhere considerably alkalized. We see that the significance of pH has in no experiments fallen under the optimum for our bacteria. The result of comparison of the nutritive value

of different carbon-containing compounds taken for the experiment is shown in table 2, where the amount of bacteria developed on 1 cc. of the medium is indicated. In these as in other experiments the bacteria were computed through sowing on alkaline agar.

As seen from this table in the given experiment a medium containing sulphurous-acid ammonium and urea is taken for check and the improvement of development stimulated by one of these substances is estimated in relation to it.

Without establishing a string of substances analysed according to their nutritive value, we shall only denote some regularities. So for instance, it is evident, that all the carbohydrates stimulate but a slow development of the bacterium as compared to urea. This can also be applied to many-atomed alkohols. But if salt of organic acid is taken we are under the impression that the increases in its molecule of nonoxidized groups raises the nutritive value of the substance. So f. i. oxalic acid having two carboxyl groups is assimilated badly; acetic acid, having one nonoxidized methyl group besides of the carboxyl one, is assimilated better. If we take alkohol, succinic and apple acids the regularity described seems also to be the same. At last if we remember that sugars contain oxygen together with all their carbons, their bad assimilation becomes clear.

It is obvious that the physiology of an organism can not be limited by a strict chemical classification. Many substances are, owing to a number of reasons often much better assimilated by an organism than it could appear at the first sight according to their formula. And in our case we see that citric acid which in comparison with the succinic acid contains a much higher amount of oxidized carbo-hydrates is assimilated much more intensively that the latter. On the other hand in the given experiment the succinic and apple acids are assimilated with almost the same success.

In one word, our experiment shows that the scheme given by Nägeli for the estimation of the nutritive value of different compounds for the microorganisms can not be applied to our bacterium. It is known, that Nägeli and Lev in cultivating fungi on media with different sources of carbon have discovered that carbon is best of all assimilated in the form of the radical CH_2, worse in CH and is altogether not assimilated from carboxyl. According to Nägeli, sugars occupy with regard to their nutritive value one of the first places. Our bacterium assimilates successfully, as we can see, reduced carbon-atoms and together with it — although inactively — the groups of CH_2OH, CHOH and COOH.

Kostytshew S.P. on studying the physiology of fungi came to a conclusion that organic matters consumed by fungy are converted into sugars prior to their assimilation. Therefore in his opinion the nutritive value of organic compounds is estimated by the rapidity with which they are converted into sugar. It is quite clear, that if the majority of microorganisms is subjugated to this fine scheme, the bacterium in question forms an exception in the given case because it is difficult to suppose that easily assimilated organic acids could be transformed by the organism in hard-accessible carbo-hydrates.

Experiment No. 3. The experiment described above may seem to be not very convincing because of the absence of check convenient for comparison. Therefore we repeated it, changing somewhat the composition of the medium. In this experiment urea was excluded from the basic ground

and as a single nitrogeneous source $(NH_4)_2CO_3$ was taken synthetized under sterile conditions from ammonium of carbon acid gas, and then added to the sterilized medium. On standing in a thermostat this salt dissociates and the medium is somewhat alkalized. Owing to this fact in the present case $(NH_4)_2SO_4$ was replaced by $(NH_4)_2CO_3$.

The experiment conditions are analoguous to the previous experiment. The results are indicated in the table 3.

Table 3.

Composition of the medium	Amount of Bacteria in thousands for 1 cc.				pH	
	2 days	5 days	8 days	12 days	Initial	Terminal
All the media contained 0,1 p. c. $(NH_4)_2CO_3$ with different C-sources						Because of a dammage in the apparatus, no determination took place. All the media had an alkaline reaction.
1. With 0,5 of urea	2.000	1.600	2.070	280	8,0	
2. ,, 0,5 of glucose	1.600	1.700	1.660	590	8,0	
3. ,, 0,5 of cane-sugar	2.300	1.900	3.000	770	8,1	
4. ,, 0,5 of arabinose	1.800	2.000	2.300	500	8,0	
5. ,, 0,5 of dextrin	3.400	2.500	—	1.800	8,0	
6. ,, 0,5 of starch	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	
7. ,, 0,5 of glycerine	30	4.790	—	3.100	8,2	
8. ,, 0,5 of mannite	20	90	—	1.130	8,1	
9. ,, 0,5 of oxalic acid sodium .	1.600	2.080	—	1.820	8.4	
10. ,, 0,5 of wine acid sodium . .	4.300	3.700	—	2.500	8,0	
11. ,, 0,5 of acetic acid sodium .	6.000	14.900	21.000	2.710	8,0	
12. ,, 0,5 of apple acid sodium .	18.400	13.000	—	11.000	8,0	
13. ,, 0,5 of citric acid sodium . .	32.000	6.000	3.800	780	8,0	
14. ,, 0,5 of succinic acid sodium	19.400	14.100	—	9.600	8,1	
15. One $(NH_4)_2CO_3$, 0,1 p. c.	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	

From this experiment it may be observed that in difference from the Bacillus probatus our microorganism can not exist as autotrophic bacteria using both N and C from $(NH_4)_2CO_3$. Starch is also not assimilated. For the rest the order of assimilation of nutritive substances remains the same as in the previous experiment. Only a more correct distribution of qualitatively-diminishing range of organic acids can be observed.

Thus this experiment on the whole leads us to the same conclusions as the preceeding one.

Table 4.

Composition of the medium	Amount of Bacteria in thousands for 1 cc.				pH	
	1 day	3 days	7 days	14 days	Initial	Terminal
1. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2CO_3$	0,0	0,0	0,0	0,0	7,8	7,8
2. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2CO_3$ with 0,5 p. c. of cane-sugar	30	120	0,0	300	7,8	8,1
3. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2CO_3$ with 0,5 p. c. of acetic acid sodium	100	430	2.920	3.100	7,9	9,2
4. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2CO_3$ with 0,5 p. c. of citric acid sodium	300	980	1.060	10.660	7,9	9,3

1. $(NH_4)_2CO_3$ was taken synthesized under sterile conditions. In test retorts it was introduced, after their sterilization, by a pipette.

2. Other conditions of the experiment the same as in experiment No. 2.

Experiment No. 4. Concluding the present chapter we give the description of the experiment No. 4, which can be considered as the repetition of the last experiment but conducted more narrowly. In this case the bacteria on the whole were developing worse owing to reasons which remained obscure, but as we can observe cane-sugar was here also assimilated worse than organic acids. The experiment-conditions were the usual ones.

Experiment No. 5. It appeared of interest to us to compare more exactly the development of urobacteria on sugars, on one hand, and on wine acid on the other, i. e. on compositions which are alike in their chemical nature. As seen from the table 5 no essential difference in the nutritive value of these compositions was detected. The composition of the medium as well as all the rest experiment-conditions were in this case also the usual ones.

Table 5.

Composition of the medium	Amount of Bacteria in thousands for 1 cc.				pH
	1 day	3 days	8 days	14 days	Initial
1. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2SO_4$ with 0,5 p. c. of glucose	190	470	1.710	1.160	7,8
2. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2SO_4$ with 0,5 p. c. of saccharose	110	90	1.740	1.840	7,8
3. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2SO_4$ with 0,5 p. c. of wine-acid sodium	90	1.480	910	2.740	7,8
4. 0,1 p. c. of $(NH_4)_2SO_4$ with 0,5 p. c. of wine-acid sodium	150	2.740	1.100	2.570	7,8

1. In all the media except of the substances mentioned, 2 p. c. of urea was added.
2. All the other experiment-conditions as usual.

The assimilation of nitrogen-containing compositions.

In the preceeding chapter we have already denoted, that urea filtrated through Chamberland's candle in which traces of ammonia are not contained ist not assimilated by our bacterium. Thus the amide group is a worse source of nitrogen than ammonia, since the addition of the latter stimulates an immediate development.

Table 6.

Composition of the media	Amount of Bacteria in thousands for 1 cc.				pH	
	3 days	7 days	14 days	21 days	Initial	Terminal
Experiment No. 1.						
1. 2 p. c. of urea with 0,5 p. c. of cane-sugar	0,0	0,0	0,0	—	7,9	—
2. 2 p. c. of urea with 0,5 p. c. of citric acid sodium	0,0	0,0	0,0	—	8,0	—
3. 2 p. c. of urea with 0,5 p. c. of acetic-acid sodium	0,0	0,0	0,0	—	7,9	—
Experiment No. 2.						
1. 2 p. c. of urea with 0,5 p. c. of cane-sugar	0,0	0,0	0,0	0,0	7,8	7,9
2. 2 p. c. of urea with 0,5 p. c. of citric-acid sodium	0,0	0,0	0,0	660	7,8	8,4
3. 2 p. c. of urea with 0,5 p. c. of acetic-acid sodium	0,0	0,0	0,0	0,0	7,8	7,9

1. Experiement-conditions the same as in No. 2.

Experiment No. 6. The experiment No. 6 proves once more the bad nutritive value of urea. In this case urea was taken sterilized by filtration through Chamberland's filter, the basic ground of the medium being the ordinary one, except sulphuric ammonium, which was exempt.

Experiment No. 7. Taking into consideration, that our bacteria contain urease which is able to convert urea into ammonium-compounds, we assumed that if a considerable quantity of bacteria was introduced into the medium of the experiment No. 6, hydrolysis of urea would proceed very rapidly and the liberated ammonia would stimulate the further development of the culture. At an ordinary inoculation with a needle this does not occur since the amount of ferment is too small and bacteria die out prior to the hydrolysis of urea. In the case when single cells survive in such a medium a sudden outburst of bacterial development may come after a long period of time, as is shown in the table 6 in the medium with citric acid sodium (Exp. No. 2).

In the experiment attempting to ascertain the question put before us the usual conditions were observed. The culture for inoculation was washed away from agar with distilled water and from the shake mixture the inoculation was performed. The medium, certainly, had no other source of nitrogen, except non-hydrolysed urea. The figures in the table below justify completely our suppositions.

We must denote that in our experiment we touch very nearly the problem of the so called "bios" and it is possible that the need to introduce into the medium under inoculation a certain minimum of microorganisms depends upon the role of the ferments introduced together with them which produce some transformation, stimulating the further microbial development.

Table 7.

Composition of the medium	Amount of Bacteria in thous. for 1 cc.			pH	
	3 days	7 days	14 days	Initial	Terminal
Experiment No. 1.					
1. 2 p. c. of urea (weak inoculation)	0,0	0,0	0,0	8,1	8,2
2. 2 p. c. of urea (strong inoculation)	0,0	8,4	16,0	8,1	8,4
3. 2 p. c. of urea sterilized in autoclave . . .	600	2.100	900	8,1	8,4
Experiment No. 2.					
1. 2 p. c. of urea (Inoculation with 3 drops of the culture)	0,0	0,0	0,0	8,1	8,0
2. Idem	0,0	0,0	0,0	8,1	8,0
3. 2 p. c. of urea (inoculation with 0,25 cc. of the culture)	0,0	8,4	26,0	8,1	8,3
4. 2 p. c. of urea (inoculation with 1 cc. of the culture)	550	610	—	8,1	8,7
5. As No. 4	70	620	—	8,1	8,6

1. For inoculation the culture was washed away from meat-peptonic agar with sterile water.
2. Urea, filtrated through Chamberland's candle, was used.
3. Other experiment conditions the same as in experiment No. 2.

In the experiment described above it was necessary to introduce about 1 cc. of shake mixture with bacteria (about 70.000 of bacteria on 1 cc. of the medium) for the purpose to urge the further development of bacteria.

It is interesting to note, that in the case when the lesser amount of emulsion was introduced the bacteria died out almost entirely and were not discovered by the sowing in 0,01 cc. of the medium after 3 days. The same was observed even when the inoculation of medium was performed with 0,25 cc. of bacterial emulsion. In the latter case, however, in spite of the bacterial death action of ferments, seemingly, continued and the few remaining bacteria begin to propagate with the accumulation of ammonia already on the 7-th day. They amount to 8—23 thousands on 1 cc. of the medium, their further growth being still probable. We are of the opinion that Miquel's experiments showed convincingly enough the non-cellular process of fermentation of urea and from this point of view the phenomenon described by us can be easily explained.

Experiment No. 8. After ascertaining the fact that the group NH_2 is assimilated by our bacterium with a certain difficulty, it would be of interest to check the bacterial development on amino acids and peptone; which we fulfilled in our further experiments.

Table 8 represents the experiment with asparagine filtrated through Chamberland's candle and introduced into the basic medium devoid of other sources of nitrogenous nutrition in the proportion of 0,5 p. c. of the amount of the medium. The inoculation was performed with a fresh agar culture. On media with leucine the experiment was conducted similarly.

Table 8.

Composition of the medium	Amount of Bacteria in thousands for 1 cc.				pH	
	2 days	5 days	8 days	15 days	Initial	Terminal
Experiment No. 1.						
1. 0,5 p. c. of asparagine with 0,1 p. c. of $(NH_4)_2SO_4$	5.100	3.660	2.800	—	7,9	8,2
2. 0,5 p. c. of asparagine	0,0	0,0	260	1.200	7,6	8,2
3. Idem	0,0	0,0	300	2.500	7,9	8,3
4. Idem	0,0	0,0	60	3.870	8,1	8,3
5. Idem	0,0	21,3	340	3.500	8,5	8,6
Experiment No. 2.						
1. 0,5 p. c. of leucine	0,0	—	0,0	0,0	7,7	—
2. Idem with 0,5 p. c. of acetic-acid sod.	0,0	—	0,0	910	7,7	—
Experiment No. 3.						
1. 0,5 p. c. of asparagine	0,0	0,0	0,0	8.300	7,6	—
2. Idem	0,0	0,0	5,0	2.300	7,9	—
3. Idem	0,0	0,0	2,5	3.660	8,1	—
4. Idem with 0,1 p. c. of $(NH_4)_2SO_4$	5,0	1.690	820,0	—	7,6	—
5. Idem	26,0	13.400	9.000,0	—	7,9	—
6. Idem	4.100	1.600	890,0	—	8,1	—

1. For these experiments asparagine was taken filtrated through Chamberland's candle. The same was done with leucine. In the beginning of the experiments no traces of ammonium were found in the solution.

2. The experiments were conducted in retorts with 50 cc. of the medium, under the usual conditions.

From these data we see that on the medium with asparagine an immediate development takes place only in the case when asparagine is introduced simultaneously with $(NH_4)_2SO_4$. In other tubes with various alkalescence bacteria also begin to develop after some space of time, and their deve-

lopment proceeds the more energetically the more alkaline is the medium. However, before 4—5 days no turbidity could be seen on these media. The same was observed with leucine.

It must be emphasized that at the beginning of a noticeable development a considerable amount of ammonia which so far was completely absent in the medium was detected through a distillation under reduced pressure.

Thus we may conclude that NH_2 of the amino-acid group also can be assimilated only after their preliminary hydrolysis which in the given case is perhaps condition ed even by purely chemical reasons. At least the salts of NH_4 are much more acceptable for our bacterium than amino-acids and the assimilation of the latter after their preliminary disintegration is quite comprehensible.

Experiments No. 9. An experiment with peptone was conducted further on which gave exactly the same results as those with asparagine (Table 9). It must be pointed out that Witte's peptone used in our experiment was received by the laboratory from abroad in 1921 and was quite free from salts of NH_4. This can not be said about peptone of the same mark which we got from the same source, but later.

As the figures show peptone begins to be assimilated only after a certain period of its standing in a thermostat, the duration of which depends upon the reaction of a medium. Perhaps accidentally in our experiments with asparagine and peptone somewhat varying optimum alkalescences were obtained. At the beginning of the bacterial development the medium when checked showed an intense reaction on NH_4, which was not observed previously. Ammonia was ascertained by means of distillation under a reduced pressure. It is not difficult to see from the table that the addition to peptone of $(NH_4)_2SO_4$ resulted in a rapid and exuberant bacterial growth.

Table 9.

Composition of the medium	Amount of Bacteria in thousands for 1 cc.				pH	
	2 days	5 days	8 days	14 days	Initial	Terminal
1. 0,5 of peptone	0,0	0,0	40,0	—	7,5	
2. 0,5 of peptone	0,0	0,0	30.000	—	7,9	
3. 0,5 of peptone	0,0	0,0	0,0	—	8,5	
4. 0,5 of peptone with 1 p. c. $(NH_4)_2SO_4$	1.500	—	40.400	—	7,6	
5. 0,5 of peptone with 1 p. c. $(NH_4)_2SO_4$	1.800	—	24.200	—	7,6	

1. Peptone was sterilized separetely from the nutritive medium.
2. Before the experiment, no traces of ammonium were discovered in the media.
3. The experiment was conducted in retorts with 50 p. c. of the nutritive medium, under the usual conditions.

Experiment No. 10. In order to obtain a more detailed notion about the changes undergone by nitrogen, amino-acids at the development of our bacterium we conducted an experiment on the mineral medium of an ordinary composition where 1 p. c. of asparagine filtered through Chamberland's candle was added as well as $(NH_4)_2SO_4$ — 10 mgr. for 1 litre of the medium. The latter salt was introduced with a view to stimulate the initial bacterial development. The sterilized medium was inoculated with a fresh

culture and after definite spaces of time by distillation under a reduced pressure ammonia was ascertained. As the table 10 shows the development of bacteria is accompanied by an energetic ammonification. The qualitative analysis of media containing peptone gives the same results.

Table 10.

Experiment	Amount of NH_4 for 1 l. of medium		
	Beginning of the experiment	After 3 days	After 9 days
	mgr.	mgr.	mgr.
1. Check	10,0	10,0	10,3
2. Experiment with a medium inoculated with Bacteria	10,0	17,22	152,28

1. For the experiment retorts of 100 cc. were taken; all the other conditions as usual.

Experiment No. 11. We attempted to urge an intensive development of bacteria on the media containing asparagine and peptone by introducing into them a considerable infection. Analogically with urea we assumed that a rapid hydrolysis and formation of ammonia can be provoked in the given case. However, this was not obtained since the compounds referred to are more stable than urea and their decomposition proceeds with a greater difficulty. Therefore we see that within two days on the experimental media because of the lack of nitrogenous nutrition a majority of bacteria dies out and only on the third day after an appropriate change of the medium their more or less noticeable development can be observed.

The results of the experiment referred to are illustrated by the table 11, where for comparison urea was taken together with asparagine and peptone.

Table 11.

Composition of the medium	Bacteria introduced for 1 cc. of the medium in thous.	Amount of Bacteria in thous. for 1 cc.		pH	
		2 days	8 days	Initial	Terminal
1. 0,5 p. c. of asparagine	350	0,5	units	7,7	
2. 0,5 p. c. of asparagine	1.500	0,0	,,	7,7	
3. 0,5 p. c. of peptone	360	0,0	,,	7,8	
4. 0,5 p. c. of peptone	1.540	0,0	520	7,8	
5. 2 p. c. of urea	640	0,0	1.200	7,9	
6. As No. 5, with 0,5 p. c. of glucose .	640	160	1.600	7,9	
7. As No. 5, with 0,5 p. c. of acetic-acid sodium	640	4.000	3.500	8,1	

Thus our experiments prove that our species of bacteria assimilate nitrogen undoubtless better from ammonium salts than from amino-acids and peptone. The indications found in literature suggest that this peculiarity is proper to many urobacteria.

Some observations on biochemical alterations in the medium at the development of our bacterium.

Experiment No. 12. At our present investigation work we were interested in the synthetic processes proceeding at the development of our bacterium even on such a simple medium where the source of nitrogen is nitric salt, and acetic acid sodium is taken as carbon.

It may be easily supposed that acetic acid is reduced at building up from it organic substances of bacterial organism into acetic aldehyde which on polymerization forms more complicated compounds. This possibility is due to thoroughly investigated methods of aldol condensation. To verify this consideration two experiments were conducted in Erlenmeyr's one-litre retorts with 400 cc. of the medium, consisting from Winogradsky's nutritive mixture with the substitution of $(NH_4)_2SO_4$ by synthetic $(NH)_2CO_3$ (0,1 p. c.). In one retort 1 p. c. of sugar and in two other retorts the same quantity of acetic acid sodium were taken as carbonic sources. Besides of the compounds previously mentioned 3 p. c. of Na_2SO_3 in one experiment and 3 p. c. of Ca_2SO_3 in another were introduced into the media.

During a fortnight the retorts were standing in a thermostat at 30° C. On the medium with acetic acid sodium the bacteria developed rapidly. On the contrary, in the retorts with sugar no visible turbidity could be observed during the whole experiment. After the elapse of this period the analysis of acetic aldehyde according to Neuberg's [10] method was carried out. It was found out that this substance was absent in all the retorts, except the check one with sugar infected with yeast. At the same time in the first experiment the bacteria decomposed 64,7 p. c. of the whole quantity of acetic acid, in the second — 57 p. c.

The result of our analysis makes us believe that the assimilation of acetic acid proceeds, seemingly, in accordance with the scheme similar to that which was indicated by Thunberg and Wieland. The type of acetic acid synthesis transformed into a more complicated compound-succinic acid indicated by them was confirmed recently by Boutkevitsh and Fedoroff's works. The reaction pointed out is subject to the following equation:

$$COOH \cdot CH_3 + CH_3COOH = COOHCH_2CH_2 \cdot COOH + 2\ H.$$

As succinic acid is consumed energetically by our bacteria the attempts to discover it in etherial extracts of tested media failed.

In this case it was possible only to state through the qualitative reaction the presence of small quantities of oxalic acid.

In many experiments for the discovery of oxalic acid a medium, indicated by Prof. Boutkevitsh [12], was taken with the addition of 1 p. c. of acetic acid sodium, 30 cc. of the medium were taken for the experiment and 3 gr. of chalk added to it. The sterilized retorts were inoculated with pure culture and after one month an analysis was executed with a view to ascertain the presence of oxalic acid in the medium. The calcium salt of this latter after the dissolution of chalk and filtration was transformed into a solution by means of 5 p. c. of boiling hydrochloric acid and titrated $n_{10}KM_nO_4$. In the course of this operation the following results were obtained:

For the check retort 0,15 c.c. of $KMnO_4$ was used
,, ,, test retort 0,9 c.c. } (The development in this case was weak)
,, other test retort 2,1 c.c. }

Thus it appears that the bacterial development in a medium is connected with the accumulation in it of small quantities of oxalic acid and this proves the theory of Thunberg and Wieland, since according to Butkevitsch and Fedoroff oxalic acid is formed from acetic acid passing the stage of succinic acid.

This latter owing to the reasons referred to could not be discovered in our medium.

Certainly, perhaps the synthesis of organic composition from the acetic acid proceeds also by another way but anyhow without passing the stage of acetic aldehyde.

Summary.

1. On the basis of preliminary experiments favourable results were obtained in attempting to differentiate the group of soil urobacteria on their relation to the sources of carbonic nutrition. This makes it possible to divide the vast group of urea-decomposing bacteria into a series of more specific forms, the distribution of which, seemingly, is connected with a definite soil type. Thus we may suppose that the more profound investigation of the physiology of some specific urobacteria will enable to use them as indicative organisms for the estimation of the economic value of soils.

2. In the present work the species of urobacteria is described which is highly specific with regard to the sources of carbonic nutrition. This bacterium assimilates far better the salts of organic acids than carbo-hydrates. It is pointed out-that the compounds with non-oxiled atoms of carbon are of great nutritive value.

3. Ammonium salts are assimilated by the bacterium described above better than urea, asparagine and peptone, which are taken only after their preliminary hydrolysis.

4. It was established that acetic aldehyde is not formed at the assimilation of acetic acid, which makes possible the supposition that the synthetic processes proceed according to the scheme of Thunberg and Wieland.

Bibliography.

1. Iwanow, N. N., The Formation and Transformation of urea in plants. Materials on Mycology and Phytopatology, Year 7, issue I, 1928. (Russian.) — 2. Jaksch, v., Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. 5. 1881. S. 395. — 3. Beijerinck, Centr. f. Bact. II. Abt. Bd. 7. 1901. S. 33. — 4. Bieremás, Ibid. Bd. 23. 1909. S. 677. — 5. Söhngen, Ibid., Bd. 23. 1909. S. 91. — 6. Christensen, Ibid. Bd. 27. S. 336. — 7. Viehoever, Ibid. Bd. 39. S. 209. — 8. Rubentschik, Ibid. Bd. 65. 1925. S. 1. — 9. Kostyschev, Ztschr. f. phys. Chemie. 1920. — 10. Neuberg, Biochem. Ztschr. Nr. 89. S. 365. — 11. Butkewitsch und Fedoroff, Biochem. Ztschr. Nr. 207. S. 302. — 12. Butkewitsch, Biochem. Ztschr. Bd. 131. 1922. S. 327, 338.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Kroemer, K., und **Moog, H.,** Die Rebenveredlung. Eine Einführung in den Pfropfrebenbau und seine Grundlagen. Berlin (P. Parey) 1932. Mit 124 Textabb.

Infolge der Zunahme der Reblausverseuchungen während des Krieges und in der Nachkriegszeit hat, im Gegensatz zu dem fast nur akademischen Interesse der Vorkriegszeit, die mittelbare Bekämpfung der Reblausgefahr durch Pfropfung der Vitis vinifera-Sorten auf natürlich resistente oder überhaupt für die Reblaus nicht anfällige Amerikaner oder Amerikanerhybriden auch für den deutschen Weinbau eine außerordentlich große praktische Bedeutung gewonnen. Die Notwendigkeit des Anbaues von resistenten oder nicht anfälligen Reben, also von auf gewisse Amerikaner-Reben bzw. Bastarde solcher gepfropften Vinifera-Stöcken hat eine völlige Umwälzung im deutschen Rebveredlungswesen hervorgerufen, indem es aus den Händen des Staates in die der Winzer selbst übergegangen ist.

Das Bestreben, diesen ein allgemeinverständliches Buch über alle Fragen, die bei der neuen Art des Rebbaues in Betracht kommen, in die Hand zu geben, hat die Verff. der vorliegenden, für die Praxis geschriebenen Broschüre geleitet, die nur die Grundlagen geben will, keineswegs aber erschöpfende Behandlung des Gegenstandes erstrebt. Es ist alles berührt und besprochen worden, was von Bedeutung ist, im Schlußkapitel (XVI) auch die Selektion der Europäerreben, da bei der allgemeinen Notlage des Weinbaus die Verteuerung der Anlagen durch Pfropfrebenanbau nur bei gesteigerten und sicheren Ernten tragbar ist und zudem die unvermeidliche Erneuerung der Pflanzungen infolge der Reblausverseuchung Gelegenheit zur Ausnutzung der durch die Selektion erzielten Fortschritte bietet.

Außerdem werden nach einer Einleitung in die Sache in 15 Abschnitten auf wenig mehr als 6 Druckbogen behandelt zunächst die Unterlagsreben (reine Amerikaner sowie Kreuzungen von Amerikanern und Vinifera-Sorten sowie zwischen verschiedenen Amerikanern), die wichtigsten Merkmale zur Unterscheidung der Arten und Sorten (Triebspitzentypen, Blatt- und Blütenformen), die in Preußen zurzeit in Betracht kommenden Unterlagsreben und ihre Merkmale im besonderen, ihre Verwendung (Adaptation und Affinität), die Anzucht des Unterlagsholzes, seine Ernte und Aufbewahrung, Ernte, Bezug und Lagerung des Edelreisholzes, die Veredlungstechnik, das Vortreiben, das Einschulen, das Auspflanzen in der Rebschule, das Auspflanzen und die Pflege der jungen Pfropfreben im Weinberg.

Beim wiederholten Durchlesen des Büchleins ist dem Ref. keinerlei Lücke aufgestoßen, so daß in der Tat der Zweck des Büchleins erreicht zu sein scheint. Ohne daß auf die für den Laien etwas schwierigen seitlichen Symmetrieverhältnisse des Rebensprosses (Dorsiventralität) näher eingegangen wird, deren Nichtbeachtung bei der Pfropfung sicherlich die Hauptschuld an dem so häufigen mangelhaften Verwachsen von Unterlage und Edelreis, am Mißlingen der Pfropfung bei der Rebe trägt, wird doch durch die genaue Anweisung für die Veredlungstechnik es nahezu gesichert, daß Unterlage und Edelreis auch in seitlich richtiger, nicht seitlich inverser Lage vereinigt werden. Bei einer Neuauflage, die der Absatz hoffentlich bald notwendig macht, dürfte es indessen doch erwünscht sein, auf die Dorsiventralität der sekundären Rebensprosse etwas näher einzugehen und da-

durch für den denkenden Leser die Anweisungen für die Veredlungstechnik zu begründen. Behrens.

Klein, G., Handbuch der Pflanzenanalyse. Spezielle Analyse. Erster Teil: Anorganische Stoffe. Organische Stoffe. 1. Wien (Julius Springer) 1932. 937 S. gr. 8°. Geh. 96 RM. Leinw. 99 RM.

Wenn der Biochemiker und Pflanzenphysiologe sich ausgearbeiteter chemischer Methoden bedienen will, wird er nicht selten die Beobachtung machen, daß die zur Erfassung der reinen chemischen Substanz durchaus zuverlässigen Methoden bei ihrer Anwendung auf das biologische Medium versagen, wenn es gilt, bestimmte Stoffe aus dem vielgestaltigen, an inneren Oberflächen und störenden Substanzen reichen biologischen Milieu quantitativ zu isolieren und zu bestimmen. An ein Handbuch der Pflanzenanalyse wird man daher zwei Anforderungen stellen müssen:

1. eine im wesentlichen vollständige, in den Einzelheiten kritische Darstellung der Methoden zur Bestimmung der in Pflanzen auftretenden chemischen Stoffe;
2. eine eingehende Beschreibung der bei der Bestimmung der Stoffe aus dem biologischen Material auftretenden Komplikationen und die Möglichkeit der Beseitigung derselben zu geben.

Man darf wohl sagen, daß die erste Anforderung in dem vorliegenden Teil des Sammelwerks in ausgezeichneter Weise erfüllt ist. Für Biochemiker, Physiologen und auch praktische Chemiker wird das vorliegende Werk ein unentbehrlicher und zuverlässiger erster Ratgeber sein. Die zweite Forderung ist nicht in allen Kapiteln in gleichem Maße erfüllt. Relativ einfach liegen die Dinge noch im Abschnitt über die Bestimmung der anorganischen Stoffe, weil hier der Analyse stets eine Zerstörung der organischen Materie vorangeht. Außerdem ist hier einem allgemeinen Teil über Kationen, Anionen- und anorganische N-Verbindungen noch ein spezieller Teil über Bestimmung und Analyse der Asche angefügt (W. Suttthoff). Den Bakteriologen wird besonders die Bestimmung von NO_3, NO_2 und NH_3 interessieren. Bei der PO_4-Bestimmung wäre ein Hinweis auf die bequemen kolorimetrischen Methoden erwünscht gewesen.

Kleinmann und Stern geben eine Übersicht über die Makro- und Mikrogasanalyse mit besonderer Berücksichtigung der biologisch wichtigen Gase. Allerdings vermissen wir hier eine eingehendere Darstellung von Atmungs- und Assimilationsapparaturen, besonders derjenigen mit strömender Atmosphäre. Den konduktometrischen und katharometrischen Methoden kommt insofern erhöhte Bedeutung zu, als sie eine kontinuierliche Verfolgung des Gaswechsels (in bezug auf CO_2) ermöglichen. Ihre Brauchbarkeit für den Pflanzenphysiologen muß allerdings erst noch erwiesen werden. Die für die Erfassung des Gaswechsels der Mikroorganismen bedeutungsvolle manometrische Methode nach Warburg ist gebührend gewürdigt, wenn wir auch hier einige zweckmäßige Neuerungen zur Bestimmung des Atmungsquotienten in einem Gefäß vermissen.

Die von Neuberg und Mitarbeitern gegebene Beschreibung der Alkohole, Aldehyde und Ketone scheint uns insofern besonders wertvoll, als sie neben einer allgemeinen Darstellung der Eigenschaften besondere Rücksicht auf eine Bestimmung derjenigen Stoffe nebeneinander nimmt, die auch in der Pflanze häufig zusammen

auftreten, so daß in diesem Bereich auch für den Biologen mindestens im mikrobiologischen Medium gangbare Wege geschaffen wurden. Brieger verdankt das Handbuch eine Abhandlung über die als Wasserstofftransporteure wichtigen Phenole und Chinone. Ein ungemein schwieriges und ausgedehntes Kapitel fiel J. Schmidt mit den organischen Säuren zu. Als allgemeine Richtlinien für die Isolierung der organischen Säuren aus dem pflanzlichen Medium wurden die Rosenthalerschen Methoden der fraktionierten Extraktion übernommen. Es würde den Rahmen einer Besprechung überschreiten, wenn ich hier auf Einzelheiten eingehen wollte. Nur soviel mag erwähnt sein, daß die Alkoholextraktion besser durch eine zweite nach erfolgter Ansäuerung (vgl. von der Heide und Steiner) vollzogene Ätherextraktion zu ersetzen ist. Neben flüchtigen Säuren, die das besondere Interesse des Mikrobiologen haben werden, sind aliphatische ein- und mehrbasische Säuren, sowie Oxy- und aromatische Säuren berücksichtigt.

Die freie Säure wird richtiger durch Extraktion mit wasserfreiem Äther als durch Titration eines wässerigen Extrakts bestimmt. Auch bei einer Bestimmung der Gesamtsäure aus dem Aschengehalt muß zur Vorsicht gemahnt werden, da selbst nach Sulfat- und Phosphatkorrektur erhebliche Fehler einerseits durch präformiertes Karbonat, anderseits durch den gerade für Säurepflanzen charakteristischen hohen Ammonsalzgehalt entstehen können. Auf Einzelheiten kann hier nur kurz eingegangen werden. So macht die physiologisch wichtige Trennung der Äpfel- und Bernsteinsäure größere Schwierigkeit als der Verf. annimmt. Die Trennung von Zitronen- und Oxalsäure läßt sich einfacher durchführen, als die recht unsichere Methode nach Butkewitsch angibt. Die Alkohollöslichkeit des Bariumlaktats im Verhältnis zu anderen Säuren (bes. Fruchtsäuren) ist versehentlich vertauscht worden. Bei der Bestimmung der Brenztraubensäure vermissen wir die Methode der karboxylatischen Zerspaltung sowie diejenige über das 2,4-Dinitrophenylhydrazon. Diese Ausstellungen sollen indes nicht das Verdienst des Verf.s verkleinern, aus z. T. weit zerstreuten Einzelangaben einen außerordentlich wertvollen Materialschatz zusammengetragen zu haben.

Die in einer ganz anderen Stoffwechselsphäre entstehenden Zuckerphosphorsäuren sind mit Recht von den übrigen organischen Säuren abgetrennt und von Kobel und Neuberg nach Eigenschaften, Trennungsmöglichkeiten sowie nach ihrer biologischen Bedeutung hin beschrieben worden. Anschließend folgt eine Abhandlung über das als P-Reservestoff wichtige Phytin. Winterstein bearbeitete in ausgezeichneter Weise die Lipoide und Phosphatide, Kaufmann die Fette und Wachse unter besonderer Berücksichtigung des pflanzlichen Materials. Von Dalmer dargestellt folgen die Phytosterine.

Pringsheim und Mitarbeiter endlich haben die Darstellung der Zuckeralkohole und Kohlehydrate übernommen. Eigenschaften, Isolierungs- und Bestimmungsmethoden der einzelnen reinen Stoffe wurden klar und erschöpfend behandelt. Bekanntlich fehlt es ja an quantitativen Zuckerbestimmungsmethoden nicht (Pringsheim zählt deren für Monosaccharide allein schon 19 größtenteils auch als Mikromethoden ausgearbeitete Gänge auf). Reine Zucker sind damit in kleinsten Mengen noch mit hoher Genauigkeit zu bestimmen. Die Schwierigkeiten beginnen jedoch sofort, wenn die Zucker aus biologischem Material bestimmt werden sollen, das auch reduzierende Nichtzucker enthält. Hierbei macht sich das

Fehlen einer spezifischen Zuckerbestimmungsmethode ganz besonders schmerzlich bemerkbar. Von den katastrophalen Fehlern, die durch die unspezifischen Reduktionsmethoden entstehen können, erhält man einen Begriff, wenn man etwa den „Zucker" von im Dunkeln stehenden Blättern fortlaufend untersucht. Nach einer anfänglichen Abnahme steigt der Reduktionswert nicht selten mit fortschreitender Verdunklungszeit plötzlich wieder an und erreicht kurz vor dem Verhungern der Blätter nicht selten die Höhe zuckerreicher nichtverdunkelter Blätter oder überschreitet ihn gar. Durch eine Vergärung kann man sich dabei in vielen Fällen ein Bild über den Gehalt an Zymohexosen machen. Aber auch hierbei können — besonders nach vorausgegangener Hydrolyse — Komplikationen bezüglich der Gärgeschwindigkeit und auch der Restreduktion eintreten. Vielleicht wird hier eine Bestimmung der Gärungskohlensäure etwa nach Myrbäck weiterhelfen können. Eine Darstellung einer fraktionierten Bestimmung von Zuckern und Polysacchariden unter besonderer Berücksichtigung der Dextrine und der Stärke, sowie der Glukoside aus Pflanzenmaterial erscheint uns im Interesse von physiologisch ungemein wichtigen Bilanzuntersuchungen eine der wichtigsten Aufgaben im Rahmen eines Handbuchs der Pflanzenanalyse, um so endlich einmal zu einer zuverlässigen Bestimmung des Pflanzenstoffes zu kommen, der letzten Endes das Kohlenstoffgerüst für alle übrigen organischen Pflanzensubstanzen liefert.

Wehmer und Mitarbeiter haben zu jedem Abschnitt ein Kapitel über Vorkommen und Verbreitung der einzelnen Stoffe beigetragen und so den Nutzbereich des Werkes noch verbreitert. Zusammenfassend darf man wohl sagen, daß das vorliegende Werk zu den Standardwerken des Biochemikers und Pflanzenphysiologen gestellt werden muß.

Wetzel (Leipzig).

Esmarch, F., Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. — Monographien zum Pflanzenschutz, herausgegeben von Prof. Dr. H. Morstatt. Stück 8. Berlin (Verlag Julius Springer) 1932. 91 S., 6 Abb. Preis 9,90 RM.

Bereits 1906 hat O. Appel die Blattrollkrankheit der Kartoffel als solche erkannt und beschrieben; ihre Ursache scheint jedoch bis heute noch nicht eindeutig geklärt zu sein, obwohl in der Zwischenzeit die Zahl der Veröffentlichungen hierüber außerordentlich angewachsen ist, so daß es dem der Materie etwas Fernerstehenden Schwierigkeiten bereitet, sich ein Urteil über den jetzigen Stand der Forschungen über diese Kartoffelkrankheit zu bilden. Daher ist die Esmarchsche Monographie sehr zu begrüßen, die in übersichtlicher Gliederung und knapper, aber erschöpfender Darstellung das gesamte Problem behandelt. In der Einleitung finden sich u. a. Angaben über die geographische Verbreitung und die wirtschaftliche Bedeutung, es folgen dann die Schilderung des Krankheitsbildes und -verlaufes, die Physiologie und Übertragung, der Einfluß äußerer Faktoren auf die Krankheit sowie ihre inneren Faktoren. Im Kapitel über Ätiologie der Krankheit werden die beiden noch stark gegensätzlichen Theorien, die Virustheorie und die ökologische Abbautheorie klar und objektiv einander gegenübergestellt, wobei es der Verf. sorgfältig vermeidet, sich im Sinne der einen oder der anderen auszusprechen. Den Schluß bildet ein Abschnitt über Bekämpfung der Krankheit, indem als wichtigste Methoden die Staudenauslese und der Pflanzgutwechsel näher erörtert werden.

C. Stapp.

Pascher, Die Süßwasser-Flora Mitteleuropas. Heft 9. 1932. II. Aufl. — Czurda, V., Zygnemales. Brosch. 9.—, geb. 10.— RM.

Diese gründliche Neubearbeitung der Zygnemales bringt wesentliche Erweiterungen gegenüber der I. Auflage vom Jahre 1913, schon insofern, als das Gebiet sich jetzt auf Mitteleuropa bezieht, während es früher Deutschland, Österreich und die Schweiz umfaßte. Die Zahl der Arten hat bei Spirogyra von 56 auf 113 zugenommen. Bei Zygnema von 13 auf 40 und bei Mougeotia von 21 auf 70. Die Bearbeitung gibt mithin eine sehr vollkommene Übersicht und ist mit Dank zu begrüßen, zumal der Verf. darin seine eigenen neuesten Untersuchungen sorgfältig verarbeitet hat. Als Ausgangspunkt für die Gattungs- und Artsynonyma wurde das Jahr 1843 gewählt. Die Gattung Mougeotia umfaßt nach Czurda auch Mesogerron, Debarya, Craterospermum, Staurospermum und Mesocarpus. Die Gattung Zygnema umfaßt Zygogonium und Debarya ex p., die Gattung Spirogyra endlich Rhynchonema, Sirogonium ex p. und Zygnema ex p. Verf. läßt also nur drei Gattungen zu. Die verwandtschaftlichen Beziehungen der Zygnemalen sind in einem besonderen Kapitel des Allgemeinen Teils von A. Pascher bearbeitet worden. Pascher setzt darin die Zygnemalen in nähere Beziehung zu den Mesotaeniaceen, bei denen auch plattenförmige, sternförmige und schraubenförmige Chromatophoren vorkommen. Verschiedenheiten bei der Keimung der Zygoten mißt Verf. keine besondere systematische Bedeutung bei. Eine Verwandtschaft der Zygnemalen mit den Diatomeen wird nicht angenommen.

Kolkwitz (Berlin).

Allgemeines und Methodisches.

Birkinshaw, J. H., and Raistrick, H., II. Quantitative methods and technique of investigation of the products of metabolism of micro-organisms. (Philosoph. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B. Vol. 220. 1931. p. 11—26.)

Es werden die Apparatur für die Stoffwechselversuche sowie die Herstellung der Nährlösungen (50 g Glukose, 2 g Natriumnitrat, 1 g saures Kaliumphosphat, 0,5 g Kaliumchlorid, 0,5 g Magnesiumsulfat, 0,01 g Ferrosulfat auf 1000 ccm Wasser) beschrieben. In der Apparatur wurden die gasförmigen Stoffwechselprodukte durch einen sterilen Luftstrom entfernt und aufgefangen. Für die Methoden der Abtrennung und Analyse der einzelnen Stoffwechselprodukte muß auf das Original verwiesen werden.

Thies (Hannover).

van Dam, W., und Vedder, A., Die ph-Messung von festen Nährböden in der Bakteriologie. (Rec. trav. chim. Bd. 51. 1932. S. 812—814.)

Es wird ein schnelles und einfaches Verfahren zur ph-Messung fester Nährböden in der Bakteriologie angegeben, das sich schon bei mehreren Versuchen bewährt hat. L. Elion (Haag).

Schering-Kahlbaum, A.-G., Berlin (Erfinder: **W. Schoeller** und **S. Michael**), Verfahren zur gleichzeitigen Darstellung von Glukonsäure, Zitronensäure und Oxalsäure mit Hilfe von Fadenpilzen. (D.R.P. 541 545 vom 24. 5. 1927, ausg. 13. 1. 1932.)

Stärkehaltige Materialien aller Art, die mit Neutralisationsmitteln wie Hydroxyden oder Karbonaten der alkalischen Erden versetzt sind und gebacken sein können, werden mit einer Lösung von löslichen Kohlenhydraten (Hexosen) getränkt, allenfalls noch mit Nährsalzen versetzt und durch Fadenpilze vergoren. Die löslichen Kohlenhydrate können auch durch Aufschwemmungen leicht hydrolysierbarer, unlöslicher Kohlenhydrate, wie Inulin oder durch Polyalkohole, wie Mannit oder Glyzerin, ersetzt werden. Man tränkt z. B. ein Gemisch von 20 kg Kartoffelmehl und 17 kg Kreide mit einer Lösung von 5 kg Rohrzucker und 120 g Ammonnitrat in 20 l Wasser, entkeimt und impft mit Citromyces lactis. Nach 7 Tagen wird das glukonsaure Ca mit heißem Wasser ausgelaugt und die Lösung auf Glukonsäure (5 kg) verarbeitet. Aus den unlöslichen Ca-Salzen gewinnt man 3,5 kg Zitronensäure und 5 kg Oxalsäure. Bojanovsky (Aussig).

Haehn, H., Herstellung von Zitronensäure aus Kohlenhydraten mittels Schimmelpilzen. (D.R.P. 544 589 vom 13. 4. 1927, ausg. 19. 2. 1932.)

Man setzt der Nährlösung geringe Mengen von Atmungsgiften zu, wie z. B. Chinin, CO, KCN, K_2S. Man erreicht dadurch Ausbeutesteigerungen. So beträgt die Ausbeute bei Zusatz von 0,01% Chinin nach fünfwöchentlicher Gärung etwa 70%. Ohne Chinin erzielt man bloß etwa 50%.

Bojanovsky (Aussig).

Falck, R., Verfahren zur Herstellung von Glykonsäure. (D.R.P. 553 238 vom 19. 1. 1924, erteilt am 9. 6. 1932.)

Glukoselösungen werden mit anorganischen Nährsalzen und säurebindenden Erdalkalisalzen (vornehmlich Kreide) versetzt, in Schichten von etwa 1 cm Dicke ausgebreitet und mit Fadenpilzen, z. B. Sterigmatocystis niger beimpft. Durch Probenahme in gewissen Zeitabständen wird der Zeitpunkt ermittelt, da die Bildung von glukonsaurem Ca ihren Höchstwert erreicht hat. Bei einer Temperatur von 26° C ist dies nach etwa 6 Tagen der Fall. Nun wird die Gärung unterbrochen und die Lösung in der üblichen Weise auf Glukonsäure verarbeitet. Man erzielt so eine völlig reine Glukonsäure in einer Ausbeute von 70—80% des angewendeten Ausgangsstoffes und vermeidet die Bildung von Zitronensäure und Oxalsäure.

Bojanovsky (Aussig).

Invention, Gesellschaft für Verwaltung chemisch-technischer Patente, G. m. b. H., und St. Daranyi, Berlin. Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung von Azeton und Butylalkohol durch Vergärung von Kohlenhydraten. (F.P. 718 356 vom 6. 6. 1931, ausg. 21. 1. 1932. E.P. 369 126 vom 28. 7. 1931, ausg. 7. 4. 1932.)

Bei der Vergärung von kohlenhydrathaltigen Rohstoffen, wie z. B. Kartoffeln oder Mais zu Azeton und Butanol, in an sich bekannter Weise bei einer optimalen Gärtemperatur von 36—37° werden der gärenden Maische stetig oder mit Unterbrechungen neue Mengen von entkeimter Maische zugesetzt, die aus den gleichen oder anderen Rohstoffen bestehen kann und deren Konzentration höher ist als die der ursprünglichen Maische, zweckmäßigerweise etwa doppelt so hoch. Die Geschwindigkeit des Zuflusses und die Menge und Konzentration der zugesetzten Maische werden so geregelt, daß der Gesamtgehalt der gärenden Maische an unvergorenen und vergorenen Kohlenhydraten etwa das 1,4—1,5fache der ursprünglichen Kohlenhydratkonzentration ausmacht, daß aber der ursprüngliche Gehalt

an unvergorenen Kohlehydraten nicht überschritten wird. Nachdem der Zulauf beendet ist, läßt man die Gärung bis auf etwa 1% Unvergorenes fortschreiten. Die Maische enthält dann 3,6—4% Gärungsprodukte, und zwar Azeton, Butanol und Äthanol im beiläufigen Verhältnis von 6 : 3 : 1. Die nach dem Abdestillieren zurückbleibende Schlempe kann zur Herstellung einer neuen Ausgangsmaische oder der konzentrierten Zusatzmaische mitverwendet werden. Als Impfgut dienen Bakterien, die an hohe Konzentrationen angepaßt sind. Man gewinnt solche Kulturen beispielsweise von der vorhergehenden Gärung dadurch, daß man die Bakterien zu jenem Zeitpunkte entnimmt, da die Maische den Höchstgehalt an vergorenen und unvergorenen Kohlehydraten aufweist und ⅓ der gesamten Kohlehydrate noch unvergoren ist. Bojanovsky (Aussig).

Keller, M., Factors in the preparation of bacteriophage. (Journ. Bact. Vol. 22. 1931. p. 199—208.)

Es wird eine Methode zur Darstellung von Bakteriophagen in großer Menge beschrieben. Derselbe ist von verhältnismäßig hoher Wirksamkeit und bleibt frei von sekundärem Wachstum. Charakteristisch für die Methode ist die verlängerte Inkubation bei Zimmertemperatur.

Thies (Hannover).

Hurst, C. T., und Strong, I. C., Über die Kultivierung der Mitochondrien in vitro. (Arch. Protistenkde. Bd. 77. 1932. S. 395—406, 1 Abb.)

Das Ausgangsmaterial für die Zucht der Mitochondrien lieferte die Leber der Albinomaus. Die gebrauchten Kulturböden waren 1. eine Abänderung des von Wallin beschriebenen Leberaufgußbodens, und zwar abgeändert hauptsächlich dadurch, daß kein Agar darin war, 2. eine Abänderung des von der Digestive Ferments Co. beschriebenen dehydrierten Bacto-Agar-Nährbodens. Es gelang, die M. zu kultivieren und zu subkultivieren (5 Generationen). Zur Färbung dienten Janusgrün B in der Verdünnung 1 : 500 000 oder Giemsa. Ein peripherer Gürtel um jedes Mitochondrium herum wird als Lipoidhäutchen gedeutet. Die Konzentration der Wasserstoffionen ist sehr wichtig bei der Kultur in vitro; am vorteilhaftesten ist ph 7,2. Die Beobachtungen sprechen dafür, daß M. sich durch Zweiteilung vermehren und scheinen die Auffassung einer unabhängigen Natur der M. zu bestätigen. K. Friederichs.

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Pettinger, N. A., Henderson, R. G., and Wingard, S. A., Some nutrial disorders in corn grown in sand cultures. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. S. 33—51, 7 figs.)

Bei der Kultur in reinem Quarzsand, dem Grundnährlösung zugesetzt war, zeigten sich an Maispflanzen 3 Chlorosen, Sterilität der Blüten und Zwergwuchs von Pflanzen. Der Typ A der Chlorose beruht auf einem Mangel an Magnesium, Typ B auf einen Überfluß von Natrium, Typ C auf einen Mangel an Mangan. Die Sterilität führen Verff. auf das Fehlen von Bor zurück. Es wurde gefunden, daß Zusatz von Mangan, Zink, Kupfer, Bor und Arsen zur Grundnährlösung die Frostresistenz der jungen Pflanzen erhöht. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Lundegardh, H., Studier över Strasändens Näringsupptagande samt dettas betydelse för tillväxten och för uppkomsten av icke-parasitära sjukdomar. (Studien über die Nährstoffabsorption der Cerealien und die Ursache nichtparasitärer Krankheiten.) (Centralanstalt för försöksv. pa jordbruks., 1931, Medd. Nr. 403.) (Mit einer Zusammenfassung in deutscher Sprache.)

Das Wesentliche dieser Abhandlung ist bereits in der „Nährstoffaufnahme der Pflanze" desselben Verfassers verarbeitet worden. Von hohem Interesse sind die Ansichten, die Verf. von der Funktion des Kalium-Ions entwickelt. Danach wäre die hohe Beweglichkeit und die leichte Absorptionsmöglichkeit des Kalium-Ions der Grund für das Vorherrschen dieses Elementes in der Pflanze. Die weniger beweglichen bivalenten Ionen werden in den Wurzeln zurückgehalten und erreichen die Samen nur in sehr geringen Mengen.

Bei der Anwesenheit von Kolloiden im Nährsubstrat wird die Absorption der bivalenten Ionen weiterhin vermindert. Diese Tätigkeit der Kolloide hängt von den allgemeinen Absorptionsgesetzen und der Ionen-Beweglichkeit und nicht von dem Wechsel der Wasserstoffionenkonzentration ab.

F. Merkenschlager (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Miller, J. H., and **Harvey, H. W.,** Peanut wilt in Georgia. (Phytopathology. Bd. 22. 1932. S. 371—383, 3 Abb.)

Als Erreger von Welkekrankheiten von Arachis hypogaea wurden von Verff. festgestellt: Fusarium martii var. phascoli, Bacterium solanacearum, Diplodia natalensis und Sclerotium rolfsii. Während F. martii und B. solanacearum die Pflanzen im Jugendstadium befallen, konnten die beiden anderen Erreger an älteren Pflanzen beobachtet werden. Die Sorte Alabama Runner erwies sich als sehr resistent gegen S. rolfsii und B. solanacearum; White Spanish war sehr anfällig. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Taubenhaus, J. J., and **Ezekiel, W. N.,** Resistance of monocotyledons to Phymatotrichum root rot. (Phytopathology. Bd. 22. 1932. S. 443—453, 1 Abb.)

Durch Infektion mit Phymatotrichum omnivorum an 16 verschiedenen Monokotyledonen konnten bei diesen keine Krankheitssymptome hervorgerufen werden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bach, W. J., and **Taubenhaus, J. J.,** Resistance of the Turk's-cap hibiscus, Malvaviscus conzattii, to Phymatotrichum root rot. (Phytopathology. Bd. 22. 1932. S. 453—458, 1 Abb.)

Von den Malvaceen erwies sich nur Malvaviscus conzattii in hohem Maße resistent gegen Phymatotrichum omnivorum.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Ezekiel, W. N., Taubenhaus, J. J., and **Fudge, J. F.,** Growth of Phymatotrichum omnivorum in plant juices as correlated with resistance of plants to root rot. (Phytopathology. Bd. 22. 1932. S. 459—474.)

Phymatotrichum omnivorum wuchs nur merklich auf Kulturen mit unverdünntem Saft von anfälligen Pflanzen. Bei Verdünnung war das Wachstum auch auf Nährböden mit Saft von resistenten Pflanzen gut. Verff. schließen daraus, daß in den resistenten Pflanzen Stoffe vorhanden sind, die in genügend hoher Konzentration das Wachstum des Pilzes verhindern. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Kohl, E. J., Investigations on apple blotch. (Phytopathology. Bd. 22. 1932. S. 349—369, 9 Abb.)

Die Pyknosporen von Phyllosticta solitaria waren an alten Krebsstellen im April reif, an jungen Stellen im Mai und an Stellen, die in vorhergehenden Jahre infiziert waren, im Juli. Die günstigste Temperatur für die Fruktifikation liegt zwischen 19 und 21° C. Durch die Anwendung von verschiedenen Chemikalien konnte das Reifen der Sporen nicht beschleunigt werden. Künstliche Infektionen waren erfolgreich. Die Inkubationszeit betrug bei den Versuchen 18—24 Tage.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Mackie, W, W., A hitherto unreported disease of maize and beans. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 637—644, 4 Abb.)

Verf. fand 1929 eine bisher nicht beschriebene Krankheit am Mais, die sich bald auch an Phaseolus vulgaris und Vigna sinensis zeigte. Als Erreger wurde Rhizoctonia bataticola festgestellt. Die Pyknidenform ist Macrophomina phaseoli.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Reddick, D., Some diseases of wild potatoes in Mexico. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 609—612.)

Verf. berichtet über das Auftreten von Puccinia pittieriana, Phytophthora infestans, Alternia solani an Wildkartoffeln in Mexiko. Viruskrankheiten wurden in keinem Fall beobachtet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Smith, W. K., The effect of different temperatures on the reaction of hope wheat to bunt. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 615—627, 1 Abb.)

Hope-Weizen war gegen 3 physiologische Formen von Tilletia tritici und 2 von T. levis im höchsten Maße resistent, wenn er zur normalen Zeit im Frühjahr gesät wurde, dagegen mäßig anfällig, wenn die Aussaat zur normalen Zeit im Herbst erfolgte. Bei Gewächshausversuchen zeigte sich, daß die Sorte Hope resistent war, wenn die Temperatur bis zum Auflaufen kalt und dann warm war. Bei einer anfälligen Sorte Jenkin wurde diese Beobachtung nicht gemacht. Verf. nimmt an, daß das Verhalten von der Sorte Hope entweder auf ungünstige Ernährungsbedingungen oder auf besonderes Verhalten des Protoplasmas, das bei der bestimmten Temperatur das Wachstum der Pilzes verzögert oder verhindert, zurückzuführen ist.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Flor, H. H., The production of bunt chlamydospores in the vegetative tissue of the wheat plant. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 661—664, 2 Abb.)

Im Gewächshaus gezogene Pflanzen, die mit Tilletia infiziert und im Winter durch künstliche Beleuchtung zur Ährenbildung gebracht wurden, zeigten, wenn nach der Ährenbildung zur Beschleunigung der Reife der Boden trocken gehalten aber kurz vor der Reife wieder bewässert wurde an dem

unteren Knoten neue Halme, die z. T. stark deformiert waren. Auf diesen zeigten sich warzenartige Gebilde, die die Chlamydosporen von Tilletia enthielten. Die Sporen waren zwar etwas kleiner als die normalen, hatten aber sonst die für Tilletia tritici und T. levis typischen netzartigen bzw. glatten Wände. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Flor, H. H., The effect of delayed planting on the control of bunt by copper carbonate. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 651—655.)

Weizen, der mit Tilletia tritici und T. levis infiziert war, wurde am 8. September mit Kupferkarbonat und Formaldehyd gebeizt und 10 Proben davon beginnend am 12. September im Abstande von je 1 Woche ausgesät. Während bei Formaldehyd die Wirkung annähernd gleich blieb, ließ sie bei Kupferkarbonat sehr stark nach.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Alben, A. O., Cole, J. R., and Levis, R. D., Chemical treatment of pecan rosette. (Phytopathology. Vol. 22. p. 595—601, 4 Abb.)

Verff. konnten die Rosettenkrankheit von Carya olivaeformis mit 0,6—1 proz. Eisensulfat- oder Eisenchloridlösung bekämpfen und zwar durch Eintauchen oder durch Bespritzen.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Kraybill, H. R., Brewer, P. H., Samson, R. W., and Gardner, M. W., A non-infectious leaf-deforming principle from mosaic deforming plants. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 629—636, 2 Abb.)

Kraybill und Eckerson konnten früher den Saft von mosaikkranken Pflanzen durch Filtrieren in 2 Bestandteile zerlegen: in den Filterrückstand, der das Mosaikvirus enthält und das Filtrat, durch das verschiedene Mißbildungen hervorgerufen werden. Es war nicht bekannt, ob der letztere Bestandteil infektiös ist oder ob er nur in mosaikkranken Pflanzen gebildet wurde. Verff. konnten durch ihre Versuche den Beweis erbringen, daß dieser Bestandteil nur in mosaikkranken Pflanzen auftritt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Goodey, T. (London), Leaf-blotch in Verbena venosa caused by Aphelenchus ritzemabosi. (Journ. Helminthol. Vol. 9. [1932]. p. 17—20.)

Verf. erhielt von drei weit auseinander liegenden Stellen Blätter von Verbena venosa, die dunkle Flecken aufwiesen. Als Ursache der Fleckung wurde die Anwesenheit des Nematoden Aphelenchus ritzemabosi festgestellt. Es ist nicht ganz ausgeschlossen, daß die Würmer in irgendeiner Dauerform sich an dem Samen befunden haben, aus dem die infizierten Pflanzen gezogen worden waren.

von Schuckmann (Berlin).

Goodey, T. (London), New hosts of Anguillulina dipsaci (Kühn, 1858) Gerv. and v. Ben. 1859, with some notes and observations on the biology of the parasite. (Journ. Helminthol. Vol. 9. [1931]. p. 191—196.)

Anguillulina dipsaci wurde vom Verf. zum erstenmal an Mohrrüben (Karotten) gefunden. Die Symptome an den befallenen Pflanzen

werden beschrieben. Es wird sodann die vom Verf. aufgestellte Liste der Wirtspflanzen von A. dipsaci berichtigt. In feuchtem Boden bleibt, nach Untersuchungen des Verf.s, A. dipsaci ohne geeignete Wirtspflanze kaum länger als 12 Monate am Leben.

von Schuckmann (Berlin).

Goodey, T. (London), On the nomenclature of the root-gall nematodes. (Journ. Helminthol. Vol. 10. [1932]. p. 21—28.)

Der Artname Heterodera radicicola (Greeff, 1872) Müller, 1884 muß, nach den Ausführungen des Verf.s ersetzt werden durch den Artnamen H. marioni (Cornu, 1879). Am Schluß der Arbeit sind die an Pflanzen schmarotzenden Arten der Nematoden-Gattungen Anguillulina und Heterodera in 2 Listen zusammengestellt.

von Schuckmann (Berlin).

Goodey, T. (London), Some observations on the biology of the root-gall nematode, Anguillulina radicicola (Greeff, 1872). (Journ. Helminthol. Vol. 10. [1932]. p. 33—44.)

Über die Biologie von Anguillulina radicicola konnte Verf. durch Untersuchung von Gallen an den Wurzeln von Elymus arenarius folgendes feststellen: Das infektiöse Stadium, das die Wurzeln der Wirtspflanzen befällt, ist das 1. Larvenstadium. Die Larve wächst in der schnell sich bildenden Galle heran, häutet sich viermal und erreicht binnen 18—21 Tagen das Stadium des jungen, noch nicht geschlechtsreifen Wurmes. Nach Reifung der Gonaden und Begattung beginnt nach weiteren 10—12 Tagen die Eiablage, die sich über viele Tage hinzieht. Normalerweise entwickelt sich in einer Galle nur eine Wurmgeneration; die Entwicklung einer 2. Generation in einer Galle scheint aber nicht völlig ausgeschlossen zu sein. Austrocknen der Galle überleben nur die 1. Larvenstadien. Verf. berichtet noch ausführlich über die Pathologie der Gallenbildung und zählt zum Schluß die Wirtspflanzen auf, die von Anguillulina radicicola befallen werden.

von Schuckmann (Berlin).

Imperial Bureau of Agricultural Parasitology. Differential diagnosis of plant-parasitic eelworms. (Journ. Helminthol. Vol. 10. [1932]. p. 53—64.)

Die Veröffentlichung enthält Angaben über die Nomenklatur und die Differentialdiagnose der 3 an Pflanzen schmarotzenden Nematodengattungen Pathoaphelenchus Cobb, 1927 (= Aphelenchus Bastian, 1865 pro parte), Anguillulina Gerv. et v. Ben., 1859 (= Tylenchus Bastian, 1865) und Heterodera Schmidt, 1871 und eine Zusammenstellung der zu diesen Gattungen gehörenden Arten.

von Schuckmann (Berlin).

Goodey, T. (London), The genus Anguillulina Gerv. et v. Ben., 1859, vel Tylenchus Bastian, 1865. (Journ. Helminthol. Vol. 10. [1932]. p. 75—180.)

Die ausführliche Arbeit enthält kurze Beschreibungen der zur Gattung Anguillulina Gerv. et v. Ben., 1859 (Tylenchus Bastian, 1865) gehörenden, parasitisch oder frei lebenden Nematodenarten. Bei den auf Pflanzen schmarotzenden Arten werden auch Angaben über Lebensweise, Wirtspflanzen und geographische Verbreitung der Würmer gemacht. In einer Liste am Schluß der Arbeit sind alle z. Zt. bekannten Anguillu-

lina- (Tylenchus-) Arten in alphabetischer Reihenfolge zusammengestellt. von Schuckmann (Berlin).

Cobb, N. A., Some recent aspects of Nematology. (Science. Vol. 73. 1931. p. 22—29.)

Die Behandlung, welche die Nematoden in zoologischen Handbüchern erfahren, ist, wie Verf. aus der Prüfung von etwa 250 englischen Büchern schließt, nicht der praktischen Bedeutung dieser Wurmgruppe entsprechend. Sie kommen bei der Darstellung nicht nur zu kurz weg, sondern viele Fehler und Irrtümer wiederholen sich immer wieder. Fast immer vergißt man, zu erwähnen, daß Nematoden sich häuten und daß das Flimmergewebe bei ihnen fehlt; man übergeht die Spinnorgane, das Fehlen gestreiften Muskelgewebes. Oft wird der Eindruck erweckt, Ascaris sei ein typischer Fadenwurm, was er wegen parasitischer Veränderungen so wenig ist wie ungeflügelte, beinlose parasitische Insekten den Typus eines Insekts darstellen. Die längs den Seitenlinien nicht zusammendrückbare Cuticula bildet ein Außenskelett, das, wie die Muskulatur angeordnet ist, nur eine dorsoventrale Bewegung ermöglicht, nicht aalähnliche Schlängelung durch seitliche Krümmungen. Die größere Anzahl der Bücher erwähnt die freilebenden Nematoden überhaupt nicht (!) usw. Verf. wendet sich gegen den Begriff „Vermes" als ein Phylum und sieht die Nematoden als ein solches an, als koordinierte Phyla Trematoden und Cestoden.

K. Friederichs.

Ghabn, A., Zur Biologie und Bekämpfung eines neuen Nelkenschädlings aus der Gruppe der Thysanopteren in Ägypten. (Inaug.-Diss. Landwirtsch. Hochschule Berlin. Ohne Jahreszahl. 17 Abb.)

Ein Blasenfüßler, der vorläufig nicht genauer als vielleicht mit Porphyrothrips cottei identisch bezeichnet werden kann und wohl mit Nelken in Ägypten eingeschleppt worden ist, tritt daselbst als Nelkenschädling auf. Nach einer genauen Beschreibung aller Stadien wird der — experimentell ermittelte — Einfluß der Temperatur, der Feuchtigkeit und der Nahrung auf die Entwicklung dargestellt. Als Nahrungspflanze ist bisher nur Dianthus caryophyllus bekannt. Zu den Lebensgewohnheiten gehört negative Phototaxis. Parthenogenese wurde nicht beobachtet. Angestochen werden bei der Nahrungsaufnahme die Epidermiszellen und Schwammgewebszellen. Die infolgedessen auftretenden pathologischen Erscheinungen breiten sich über die ganze Pflanze aus und diese wird für eine Pilzkrankheit (Alternaria sp.) empfänglich. Bekämpfung erfolgt durch wiederholte Begasung mit Cyanwasserstoffgas: 0,25 g Gasdichte bei 2½stündiger Einwirkungsdauer. Spritzmittel sind unwirksam.

K. Friederichs.

Smith, R. C., The control of the Pea Aphid in alfalfa fields with special reference to the chain drag. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 157—164.)

Gegen die Blattlaus Illinoia pisi kann das „aphidozer" genannte Fanggerät (zum Abstreifen der Läuse) erst dann mit Erfolg angewendet werden, wenn die Luzerne eine Höhe von 20 cm erreicht hat. Der Hauptbefall hat aber früher stattgefunden. Auch ist der Apparat zu teuer. Cyanogas-Flocken, womit die ersten Infektionsherde behandelt werden, wirken stark, wenn der Boden etwas feucht und die Temperatur hoch genug ist.

Soweit der Stoff auf den Blättern haften bleibt, „mögen Verbrennungen eintreten". Ein neues Verfahren ist der Gebrauch der Ketten-Schleife (chain drag), die von Pferden wiederholt und in verschiedenen Richtungen über das Feld gezogen wird, solange die Pflanzen erst 9—15 cm lang sind. Vorne befindet sich über den Ketten ein kastenförmiger Aufsatz, in den die Läuse wie beim Aphidozer hineinfallen. Soweit das nicht der Fall ist, werden sie durch die Ketten größtenteils so beschädigt, daß sie erledigt sind. Etwa 50—60% werden vernichtet, womit dem Schaden genügend vorgebeugt ist, wie Verf. sagt, da die Feinde der Blattläuse alsdann den Rest stark vermindern. Die Feinde selbst leiden weniger, auch die Pflanzen nicht nennenswert. Der praktische Wert des Gerätes bedarf noch weiterer Untersuchung.

K. Friederichs.

Oekologie, biologische und chemiche Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Wilson, G. T., Biological control of the Greenhouse White fly. (Gardeners Chron. 1931. p. 15—17. Ref. in: Rev. appl. Ent. Vol. 19. 1931. p. 375.)

Die Chalcidide Encarsia formosa wird in Gewächshäusern in Großbritannien gegen Trialeurodes vaporariorum angewendet. Man versendet die Chalcidide in parasitierten Schildläusen auf dem Laub von Tomaten und anderen Pflanzen. Die betr. Pflanzenteile werden dann im Gewächshaus aufgehängt, und die Parasiten schlüpfen aus, um alsbald die unreifen Stadien von Tr. vaporariorum anzugreifen, nach deren Vertilgung die Parasiten durch Futtermangel aussterben. Bei niedrigen Temperaturen sind sie träge. Auch E. partenopea tut die gleichen Dienste, bürgert sich aber weniger schnell ein. Gewisse Pflanzen werden von den Parasiten gemieden.

K. Friederichs.

Brown, R. C., Observations on the Satin moth and its natural enemies in Central Europe. (U. S. Dep. Agric. Washington. Circ. 1.76. 1931. 19 p.)

Der Spinner Stilpnotia salicis ist in Europa und Asien nur ausnahmsweise durch Entlaubung von Alleebäumen schädlich. In Nordamerika eingeschleppt und 1920 bemerkt, kann er jedoch größere Bedeutung gewinnen, weil Pappelholz daselbst für verschiedene Zwecke gebraucht wird. Die Raupe frißt außerdem an Weiden, ausnahmsweise an Eichen. Im Jahre 1926 wurde dem amerikanischen Schwammspinner-Laboratorium in Budapest eine Abteilung zum Studium der Stilpnotia hinzugefügt und es wurden Gradationen des Spinners in Europa beobachtet und die Art ihres Zusammenbruchs (durch Parasiten) festgestellt. In Ungarn kommt gelegentlich eine zweite (Teil-) Generation vor. Bei Budapest wurde in einem Falle die Massenvermehrung durch die Milbe Pediculoides ventricosus beendigt, im übrigen sind Schlupfwespen, Tachinen und ein Pilz, die in der Veröffentlichung genannt werden, die wirksamen Feinde der Motte.

K. Friederichs.

Trouvelot, B., Les parasites américains du Doryphore. (Rev. Path. végét. Ent. agric. Vol. 18. 1931. p. 170—171.)

Als Parasiten des Kartoffelkäfers, die in Nordamerika von Bedeutung sind, kennt man die Tachiniden Doryphorophaga doryphorae und aberrans, den Carabiden Lebia grandis und die Wanze

(Pentatomide) Perillus bioculatus. Man will versuchen, sie in Frankreich einzuführen. K. Friederichs.

Rietra, E., Jets over den bouw en de lebenswijze van Nemeritis canescens (Gravenhorst) als interne parasiet van de larve van Ephestia kuehniella Zeller. (Dissert. Leiden. 1932. 120 p., 18 fig.) [Holl. m. dtsch. Zus.]

Die Mehlmottenlarven wurden ohne Rücksicht auf ihr Alter von den Schlupfwespen mit Eiern belegt; junge Larven gehen dadurch zugrunde. Es wurden bis zu 47 Eier (meist aber viel weniger), bis zu 18 Larven in einer Mehlmottenraupe gefunden. Es gibt 5 Larvenstadien, die beschrieben werden. Die Parasiten wandern in der Leibeshöhle des Wirtes hin und her; sie kämpfen als Larven des 1. Stadiums um den alleinigen Besitz des Wirtes. Die dabei verwundeten Larven wachsen nicht mehr und sterben, bevor sie das 2. Stadium erreichen; sie sind vor dem Absterben von Haemocyten umgeben, die fähig sind, ihre Wunden anzugreifen. Nur 1 Parasit kommt zur Entwicklung. Es wird für die einzelnen Stadien angegeben, wie sie sich zuerst von Blut, später auch vom Fettgewebe, dann von den Muskeln und anderen Geweben und Organen neben Blut ernähren.

K. Friederichs.

Hill, C. C., Heterospilus cephi Rohwer, a parasite of the European Wheat sawfly, Cephus pygmaeus L. (Journ. agric. Res. Vol. 43. 1931. p. 596—609, 8 fig.)

Die Halmwespe hat einen wirksamen Parasiten in Heterospilus cephi. In den Staaten Pennsylvanien und New York nahm der Prozentsatz der von der Schlupfwespe befallenen Larven der Halmwespe von 21% in 1924 bis 39% in 1927 zu, während gleichzeitig die Halmwespe im Verhältnis von 31 : 3 abnahm. Dann ging die Parasitenzahl auf 9% zurück, 1929 auf 1%. H. cephi hat nur 1 Generation im Jahre, die Larve lebt ektoparasitisch, durchschnittlich ihrer 3 in einer Wirtslarve. Die Imago der Schlupfwespe lebt nur 1—2 Wochen. K. Friederichs.

Allen, H. W., and Warren, A. J., The results from two years experiments in mass liberations of Trichogramma minutum against the Oriental Fruit Moth. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 374—380.)

In Pfirsichgärten mit reichlichem Befall durch die Raupen von Laspeyresia molesta, die in mehreren Generationen auftreten, wurden während 2 Vegetationsperioden reichlich Trichogramma freigelassen. Es kamen etwa 400 auf den einzelnen Baum. Gleichwohl war die Verringerung des Raupenbefalls unbedeutend. K. Friederichs.

Hinds, W. E., and Osterberger, B. A., Results of Trichogramma colonization on Sugar cane borer damage in Louisiana in 1931. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 57—64.)

In Louisiana zeigten fortgesetzte Versuche auf Zuckerrohr- und Maisfeldern, die von Diatraea und Heliothis befallen waren, daß die zu richtiger Zeit geschehende Freilassung von 5000—6000 Trichogramma je acre den Schaden um ⅓—½ dessen herabdrückte, was ohne diese Maßnahme zu erwarten gewesen wäre, und die Methode wird demnach als nunmehr praktisch anwendbar bezeichnet. Auf den mit Tricho-

gramma beschickten Zuckerrohrfeldern waren die Eier von Diatraea zu 54—79%, durchschnittlich 70% parasitiert, auf direkt angrenzenden zu 36—78, durchschnittlich zu 69%, auf unbehandelten zu 7—27, durchschnittlich 19%. Die Wespen verbreiten sich während der Lebenszeit einer Generation nicht beträchtlich, sie wandern in der Richtung der vorwiegenden Luftströmung. (Wenn man bedenkt, daß 420 000 Trichogramma dazu gehörten, um 75 acres [= 30,3 ha] hinreichend zu besetzen, so muß hinter die Schlußfolgerung praktischer Verwendbarkeit zunächst doch wohl ein Fragezeichen gesetzt werden. Ref.) K. Friederichs.

Schread, J. C., Behaviour of Trichogramma in field liberations. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 370—374.)

Verf. ist geneigt, in der Streitfrage, ob Trichogramma nennenswerte Verbreitung durch aktives Fliegen erfährt, den Standpunkt einzunehmen, daß dies in der Tat der Fall ist und mit Windströmungen als Unterstützung die Schlupfwespe auf einige Entfernung wandert. Die in einem Bestand von 121 Bäumen freigelassenen Schlupfwespen breiteten sich nach allen Richtungen aus und parasitierten 50% der Eier der Pfirsichmotte. In einem anderen Obstbaumbestand gelang es, den vorhandenen kleinen Trichogramma-Bestand bis auf 53% der Motteneier zu vermehren. Wo jedoch von Natur viele Trichogramma vorkommen, erreichte man auch durch das Freilassen starker Tr.-Kolonien keine Verstärkung des Parasitenbestandes. Die Schlupfwespe flog im Labor 7,20 m weit. — Verf. stellte in Pfirsichkulturen, die an Wiesen, Weiden oder unbebautes Land angrenzten, im Beginn der Vegetationsperiode in der Regel ein viel stärkeres natürliches Vorkommen von Trichogramma in den ersten Baumreihen fest als innen im Bestand und schließt auf Zuwanderung aus jener Nachbarschaft.

K. Friederichs.

Uichanco, L. B., Water- and oil treatment against soil-inhabiting termites and ants. (Philipp. Agric. Vol. 19. 1931. p. 601—603. Ref. in: Rev. appl. Ent. Vol. 19. 1931. p. 315—316.)

Um Termitennester in der Erde zu vernichten, hat man auf den Philippinen folgendes Verfahren mit Erfolg angewendet: In den Boden, wo das Nest vermutet wird, gräbt man einen flachen Graben und füllt ihn solange mit Wasser, bis dieses nur noch langsam aufgesogen wird. Dann wird Maschinenöl oder Rohpetroleum in solcher Menge hinzugefügt, daß es eine dicke Schicht auf dem Wasser bildet. Das Öl wird dann mit dem Wasser durch Oberflächenspannung in den Boden eingesogen und dringt durch die Gänge in das Nest. Mit Öl allein ist das nicht zu erreichen. Einmalige Anwendung zerstört eine ganze Kolonie. Man kann auf gleiche Weise Ameisenvölker vertilgen. Es genügt dabei, den Boden an der betreffenden Stelle mit Wasser zu durchtränken, dann das Öl anzuwenden und wieder Wasser hinzuzugeben. Selbstverständlich dürfen keine wertvollen Pflanzen in der Nähe sein, sonst bedarf es anderer Mittel. K. Friederichs.

Wedekind, E., und Möbius, K., Systematische Untersuchungen über Kontaktgifte zur Bekämpfung von Forstschädlingen. I. (Mitt. aus Forstwirtsch. u. Forstwissensch. Jahrg. II. 1931. S. 520—528.)

Kontaktgifte haben vielfach eine doppelte Wirkungsweise, nämlich als äußerlich wirkende Kontaktgifte und als Atemgifte, wenn sie im flüchtigen

Zustande in die Atemorgane gelangen. Verff. versuchen diese verschiedenen Eigenschaften von Kontaktgiften getrennt zu erfassen. In den vorliegenden Untersuchungen wird zunächst nur die Wirkungsweise verschiedener Chlorbenzole (Mono-, o-Di-, Tri- und Tetrachlorbenzol) als Atemgifte an Tenebrio molitor erprobt. Es zeigt sich, daß — überraschenderweise — die Giftwirkung der Chlorbenzole umgekehrt proportional ist dem Chlorgehalt. P. Steiner (Tharandt).

Goetze, G., und Schleusener, W., Versuche zur Bekämpfung der Weidenblattkäfer. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 42. 1932. S. 49—58.)

Die Untersuchungen bezogen sich in erster Linie auf Phyllodecta vulgatissima. Plagiodera versicolor war nur an Amerikanerweiden vertreten, während Phyllodecta Hanfweide bevorzugte. Gegen die erstere Art richteten sich die Bekämpfungsversuche. Schon vorher war festgestellt worden, daß die bisherigen Verfahren unzureichend sind. Von den Fraßgiften brachte Fluornatrium mit Zucker als Köder einen fast 100 proz. Erfolg. Arsenmittel, verspritzt oder verstäubt, wirkten nur abschreckend, am stärksten Meritol. Auch einige Kontaktgifte, darunter das Carbolineum Dendrin (5%) wirkten gut. Die Anwendung des Fluornatriums, die sich am meisten empfiehlt, ist hauptsächlich im Juli, bei Beginn der Sommerbrut, aber auch schon vorher und nachher, nötig.
K. Friederichs.

Thompson, F. M., Pine oils as agents for protecting rustic furniture and log cabins from various wood borers. (Journ. econ. Entom. Vol. 25. 1932. p. 347—351.)

Weißzedernholz, das von Hylotrupes ligneus, Callidium antennatum, Phloeosinus dentatus u. a. stammte, wurde mit verschiedenen Arten von Kiefernharzöl behandelt. Dieses dringt sehr leicht ein und tötet die Insektenlarven, ohne die Farbe des Holzes zu verändern. Auch kann die Rinde des Baumes damit im Frühjahr behandelt werden, um Infektionen zu beseitigen und erneute zu verhindern; letzteres gelingt für mindestens eine Vegetationsperiode. K. Friederichs.

Goffart, H., Versuche zur Bekämpfung der Kohlfliege (Phorbia brassicae Bché.) mit Naphtalin. (Anzeig. Schädlingskde. Jahrg. 8. 1932. S. 44—45.)

Die Kohlfliege vernichtet nicht selten 50% der Frühkohlpflanzen. Die „Kohlkragen" haben an der Schleswig-Holsteinschen Westküste versagt, da der Wind sie dort oft in die Höhe hebt. Besser gewirkt hat 0,1 proz. Sublimat, das um die Pflanzen herumgegossen wird. Verf. hat bei Weißkohl, Rotkohl und Wirsing Naphthalin als Schreckmittel angewendet. ½ bis 1 kg Naphthalin je 25 qm wurde kurz nach dem Auspflanzen breitwürfig oder um die Pflanzenkerne herum ausgestreut. Der Schaden durch die Fliege betrug dann nur 5% gegen 20—40% bei unbehandelten Pflanzen. Die geschützten Pflanzen werden außerdem um durchschnittlich 600 g schwerer und reifen früher. Bei dieser Stärke der Dosierung des Naphthalins ist das Mittel noch nicht allgemein wirtschaftlich. Die Versuche sollen fortgesetzt werden. K. Friederichs.

Böhme, Bekämpfung der Dörrobstmotte. (Mitt. Ges. Vorratsschutz. Jahrg. 8. 1932. S. 24—26.)

Um Waren und die Räume, in denen sie aufbewahrt werden, von der Dörrobstmotte zu befreien, wird am besten Areginal U angewendet. Schwefelkohlenstoff hat die Nachteile unangenehmen Geruches, toxischer Wirkung auf Menschen und hoher Explosionsgefahr; noch viel gefährlicher sind Zyklon und Aethylenoxyd, die überdies nur von konzessionierten Firmen angewendet werden dürfen. Der Gebrauch von Areginal ist teurer; man wird daher nicht einen halbleeren, sondern einen gefüllten Raum vergasen. Man läßt die Gase 14 Tage lang einwirken. Die Ware verliert später den Geruch schnell. Die Wirkung gegen die Motte ist radikal. K. Friederichs.

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Toumanoff, C., Action des champignons entomophytes. (Annales de Parasitologie. T. 9. 1931. p. 462—482.)

Mykosen kommen bei erwachsenen Honigbienen in der Natur selten vor; Verf. berichtet über Versuche, sie künstlich herbeizuführen. Beauveria bassiana und Isaria farinosa, wiewohl sehr virulent für viele andere Insekten, erwiesen sich wenig und nicht immer virulent für Bienen. Auch gegen Aspergillus flavus sind manche Individuen sehr widerstandsfähig, aber im allgemeinen erliegen sie ihm nach wenigen Tagen. Eine allgemeine Infektion des ganzen Körpers findet nur ausnahmsweise statt, selbst Keimung der aufgenommenen Sporen nicht immer, aber die tödliche Wirkung kommt durch Vergiftung zustande, wie dadurch bewiesen wird, daß ein Filtrat aus dem Pilzmaterial gleiche Wirkung hat wie die Sporen selbst. Die Symptome sind ähnlich wie bei manchen Bienen, die aus nicht ohne weiteres erkennbarer Ursache krank sind. — Die Sporen oder das Filtrat wurden den (in Tüllkäfigen gehaltenen) Bienen in aufgelöstem Honig beigebracht. Bienenlarven konnten damit nicht infiziert werden. K. Friederichs.

Glaser, R. W., On the isolation, cultivation and classification of the so-called intracellular „symbiont" or „Rickettsia" of Periplaneta americana. (The Journ. exp. Med. Vol. 51. 1930. S. 59—82, 1 pl.)

Die Parasiten im Fettkörper der amerikanischen Schabe (die darin niemals fehlen), lassen sich leicht färben, sind gram-positiv, nicht säurefest, unbeweglich und kapseln sich nicht ein. Übertragung auf die nächste Generation erfolgt durch Infektion des reifenden Eies. Die Methode der Isolierung wird beschrieben. Der Mikroorganismus trat in den Kulturen in drei Typen auf, die morphologisch konstant sind; sie unterscheiden sich serologisch, werden aber vom Verf. als eine Art angesehen, die zur Gattung Corynebacterium gehört und eine neue Art, periplanetae f. americana darstellt. Intraperitoneale Einspritzung dieser Bakterien hatte bei den Schaben keine Allgemeininfektion zur Folge (wie sie bei Einspritzung von Eiterbazillen u. a. eintrat); die Schaben sind also immun dagegen. Es gibt keine Form dieser Parasiten, die das Berkefeld-Filter passiert. K. Friederichs.

Monod, Th., et Vladykov, V., Sur quelques Copépodes parasites provenant de la Russie Sous-carpathique (Tschécoslovaquie). (Ann. de Parasitologie hum. et comp. T. 9. 1931. p. 202—224.)

Verf. beschreibt 5 Arten parasitischer Copepoden von Fischen aus der Tschechoslowakei und sagt in seiner Schlußbemerkung, die zu dieser Gruppe gehörigen Parasiten der süßen Gewässer Europas seien noch sehr wenig bekannt; es erscheine nach der Literatur, als ob alle Ergasilus zu E. sieboldi, alle Achteres zu A. percarum, alle Argulus zu A. foliaceus gehörten. Man könne aber nicht immer wissen, ob es sich dabei nicht nur um eine Angabe über die Gattung, zu der der Parasit gehöre, handle. Die angegebenen Fälle der Beschränkung gewisser Arten auf eine Wirtsart seien ebenfalls zweifelhaft, weil zuweilen auf der noch lückenhaften Kenntnis beruhend; doch gibt es monophage Arten. Alle Angaben sind vorläufig mit Vorsicht aufzunehmen, solange die Systematik und die Verbreitung der Arten nicht weit besser bekannt sind. K. Friederichs.

Celino, M. S., A fungous disease of the coconut leafminer (Promecotheca cumingii Baly). (The Phil. Agric. Vol. 19. 1930/31. p. 253.)

Aus Promecotheca cumingii wurde ein Pilz kultiviert, der 58% der infizierten Insekten abtötete; die Tiere starben binnen 3 Tagen. Riehm (Berlin-Dahlem).

Acqua, C., Contributions à la connaissance de la nature des ultravirus. Recherches sur la maladie à polyèdres chez les insectes (Bombyx mori L.). Ascoli Piceno. 1931. 9 p.

Auszug aus einer gleichnamigen Veröffentlichung des Verf.s im Boll. R. Stazione di Gelsicoltura e Bachicoltura. Vol. 10. 1931. Er sucht darin gegenüber der Auffassung, daß die Polyederkrankheiten parasitärer Natur sind, seine Theorie zu stützen, wonach das Agens dieser Krankheit ein katalytisch wirkendes Ultravirus ist. Nach allgemeinen Ausführungen über die Natur der Ultravira, in denen er Bezug nimmt auf Bechholds Erörterung der Frage, ob es sich um Fermente oder Lebewesen handelt, weist er darauf hin, daß das Auftreten der Krankheit ganz von Umweltbedingungen abhängt: die Regionen, wo diese Krankheit bei den Seidenraupen auftritt, sind dumpfe, feuchte Niederungen; sie fehlen daselbst in trockenen Jahren. Wäre ein Parasit im Spiel, so müßte er stets und überall vorhanden sein, denn unter geeigneten Bedingungen tritt die Krankheit immer auf. Begünstigt wird sie auch durch Aufzucht mit unnatürlicher Nahrung (Maclura oder Salat). Man vermißt beim Eintritt der Seuche ein graduelles Fortschreiten, wie es für ansteckende Krankheiten typisch ist; die Polyedrie ergreift alle Individuen ungefähr gleichzeitig; sie kann durch sorgfältigste Isolierung nicht verhindert werden. Verf. gibt zu, einen unanfechtbaren Beweis noch nicht erbracht zu haben, betrachtet aber seine Beobachtungen als wichtige Stützen für seine Auffassung der Polyedrie und der Ultravira überhaupt. K. Friederichs.

Acqua, C., Les altérations provoqués par la maladie à polyèdres chez le Bombyx mori étudiées suivant les nouvelles méthodes de coloration. Ascoli Piceno. 1932. 7 p.

Zusammenfassung einer gleichnamigen Veröffentlichung des Verf.s im Boll. R. Stazione di Gelsicoltura e Bachicoltura. Vol. 11. 1932. Beschreibung der Entstehung der Polyeder in den Kernen verschiedener Gewebe der Seidenraupe und Abbildung dieser Kerne im Vergleich mit gesunden.

Fixiert wurde mit Leeuwenscher Flüssigkeit (mit Pikrinsäure als Grundlage) und gefärbt mit Pikrokarmin oder mit Ehrlichschem Gemisch (2 Teile) nebst 1% HCl in Wasser (50 Teile). Mit der letzteren Flüssigkeit wird ein Blutstropfen der kranken Raupe auf einem Objektträger vermischt und leicht erhitzt, bis die ersten Dämpfe auftreten, worauf lebhafte Rotfärbung eintritt, die die Polyeder von etwa vorhandenen anderen ähnlichen Gebilden im Blut scharf unterscheidet. K. Friederichs.

Welsh, J. H., Specific influence of the host on the light responses of parasitic water mites. (The Biolog. Bull. Vol. 61. 1931. p. 497—499.)

Die Wassermilbe Unionicola ypsilophorus var. haldemani lebt als Parasit zwischen den Kiemen der Muschel Anodonta cataracta. Gänzlich getrennt von dem Wirt ist sie positiv phototaktisch; wird aber dem Wasser ein wenig Flüssigkeit aus der Mantelhöhle der Muschel oder Kiemenextrakt zugefügt, so verhält die Milbe sich alsbald negativ phototaktisch. Die betreffenden Flüssigkeiten aus anderen Muscheln hatten nicht dieselbe Wirkung auf die Milbe, ebenso die aus Anodonta nicht auf Milben anderer Art, sondern die Umkehrung des Verhaltens zum Licht wurde immer nur durch den Chemismus der spezifischen Wirtsart bewirkt. Weitere Verfolgung derartiger Beziehungen mag auf die physiologischen Beziehungen eng zusammenlebender Tierarten Licht zu werfen geeignet sein. K. Friederichs.

Schuurmans Stekhoven, J. H. jr., und Bohnan, Th., Zur Ernährungsbiologie von Proleptus obtusus Duj. und die von diesem Parasiten hervorgerufenen Änderungen des Wirtsgewebes. (Ztschr. Parasitenkde. Bd. 4. 1932. S. 220—239, 3 Abb.)

Der Entwicklungsgang des Fadenwurms Proleptus obtusus geht über Krebse als Zwischenwirte zu Haifischen. Verf. weist eingangs auf die merkwürdige Mischung von bilateraler und radiärer Symmetrie im Bauplan der Nematoden hin. Wir wissen wenig von diesen Parasiten: von der physiologischen Bedeutung des „Füllgewebes" zwischen Darm und Kutikula, von der funktionellen Bedeutung der Darmabschnitte, der Haut, der Seitenlinien, der sog. Exkretionsdrüsen, sowie von der Phylogenie. Der Bau der genannten Nematoden ist darauf eingerichtet, diesen als Parasiten an der Darmwand des Haifisches zu befestigen. Der ganze Kopfteil wirkt wie ein Saugnapf. Durch Drüsen des Ösophagus wird Sekret geliefert, das zur extraintestinalen Verdauung von Gewebe des Wirtes dient. Resorption im Darm. Die Giftigkeit des Sekrets für den Wirt wird erörtert. In den benachbarten Zotten finden Blutungen statt, die auf toxische Wirkungen zurückzuführen sind. Es wurde beobachtet, daß Vermehrung des Gewebes, Wucherung von Bindegewebe und Bildung atypischen Epithels stattfand. Die Würmer sammeln sich später besonders in der Kerkringschen Falte unmittelbar kaudal vom Pylorus an. Man hat in diesem Schmarotzer ein schönes Beispiel des Ineinanderpassens der Struktur und Physiologie der beiden beim Parasitismus aktiv und passiv beteiligten Tierarten vor sich. K. Friederichs.

Hoeppli, R., and Hsü, H. F., Histological changes in the digestive tract of vertebrates due to parasitic worms. (The Nat. Med. Journ. of China. Vol. 17. 1931. p. 557—566.)

Die im Darmtraktus von Vertebraten durch parasitische Nematoden hervorgerufenen histopathologischen Veränderungen sind bisher nur am Menschen und einigen Haustieren untersucht worden. Die Verff. studierten diese Krankheitsbilder bei Schildkröten, einer Froschart, Schlangen und einer Krähenart. Es werden oberflächliche Verletzungen der Mucosa durch mechanische Tätigkeit von Organen wie der Saugmund und das Rostellum hervorgerufen, dazu mechanische Veränderungen in den Drüsen und Verwundungen der tieferen Lagen der Darmwand. Die erstgenannten Veränderungen führen zu einer entzündlichen Reaktion gewöhnlich nur dann, wenn der Parasit sich für lange Zeit an einer Stelle verankert. Die Drüsen werden gewunden und erweitert. In den tieferen Lagen treten Knötchen von verschiedener Struktur und Geschwüre, deren histologisches Bild durch die Entwicklung der Drüsen des Ösophagus bestimmt wird, sowie Trichter auf (Spiroxys japonica beim Frosch). K. Friederichs.

Newton, H. C. F., Notes on some parasites reared from Flea-beetles of the Genus Phyllotreta (Chrysomelidae). (Ent. Monthl. Magaz. Vol. 67. 1931. p. 82—84. Ref. in: Rev. appl. Ent. Vol. 19. 1931. p. 421.)

Als Parasiten von Flohkäfern wurden in Kent festgestellt: Perilitus aethiops und Diospilus morosus bei Larven von Phyllotreta nemorum. Verpuppen sich außerhalb des Wirtes und schlüpfen nach 2—3 Wochen etwa gleichzeitig mit der neuen Generation des Wirtes.

In Käfigen, die Imagines von Ph. atra, cruciferae, diademata, consobrina, nigripes und undulata enthielten, schlüpften Perilitus areolatus und Mesochorus sp. Letztere Schlupfwespe ist wahrscheinlich Hyperparasit. Im Gegensatz zu Ph. nemorum, aus der keine Imaginalparasiten gezüchtet wurden, entwickeln sich alle die übrigen genannten Ph.-Arten unterirdisch. In allen Stadien von Ph. atra wurden Nematoden gefunden.

K. Friederichs.

Sassuchin, D., Zum Studium der Darmprotozoenfauna der Nager im Süd-Osten RSFSR. I. Darmprotozoen des Citellus pygmaeus Pallas. (Arch. Protistenkde. Bd. 74. 1931. S. 417—428, 2 Taf. u. 2 Abb. i. Text.)

Im Darmtraktus des Ziesels (Citellus pygmaeus) im westlichen Kasakstan sind an Protozoen gefunden worden: Entamoeba citelli, Chilomastix magna, Trichomonas muris v. citelli, Tetratrichomastix citelli, Octomitus pulcher, Giardia beckeri und Blastocystis sp., alle im vegetativen Zustand im Blinddarm, aber nie alle bei einem Tier. Zuweilen fehlen Protozoen ganz, besonders bei jungen Tieren. Vielleicht ist die Diät der letzteren der Entwicklung der Protozoen ungünstig. Auch haben die Jungen in der Mutterhöhle wenig Gelegenheit, sich zu infizieren, weil das erwachsene Ziesel außerhalb defäciert. Später besuchen die jungen Ziesel fremde Höhlen und kommen dabei mit den vor den Eingängen liegenden Kotmassen in Berührung. Bei amerikanischen Zieseln (C. tridecemlineatus) treten dieselben Darmprotozoen auf. Während des Winterschlafes erbeutete Ziesel in Kasakstan, die seziert wurden, enthielten weder vegetative noch encystierte Formen von Protozoen. K. Friederichs.

Butschowitz, T., Zur Frage der sogenannten „Bakteroide" bei Lumbricus terrestris. (Biolog. Zentralbl. Bd. 51. 1931. S. 337—351.)

Unter „Bakteroiden" des Regenwurms Lumbricus terrestris werden stäbchenförmige, an den Enden zugespitzte Gebilde, seltener in Körnchenform auftretend, verstanden, die überall im Bindegewebe, zwischen der Ringmuskulatur und anderswo im Körper, hauptsächlich aber im Nervenhüllgewebe des Bauchstranges vorkommen, wie solche auch bei marinen Polychäten gefunden worden sind. In der Literatur schwankt die bisherige Meinung über diese Gebilde zwischen der Auffassung als Bakterien und als Harnsäurekrystalle. Verf. spricht sich auf Grund der Form der Gebilde, ihres negativen Verhaltens bei typischen Bakterienfärbungen, ihres Lichtbrechungsvermögens, ihres Fehlens bei ganz jungen Tieren und in wachsenden Gewebskulturen, sowie des Fehlens von Teilungsstadien dahin aus, daß es sich um Krystalle handelt. K. Friederichs.

Stunkard, H. W., and Cable, R. M., The life history of Parorchis avitus (Linton) a trematode from the cloaca of the gull. (Biol. Bull. Marine Biolog. Labor. Vol. 72. 1932. p. 328—338, 1 pl.)

Die Lebensgeschichte des Trematoden Parorchis avitus wird auf Grund von Experimenten dargestellt. Die Cercarien kommen in den marinen Schnecken Urosalpinx cinereus und Thais (Purpura) lapillus vor. Erwachsene Tiere hat man aus der Kloake der Seeschwalben Sterna hirundo und St. dougalli erhalten, nachdem die jungen Vögel mit encystierten Larven gefüttert worden waren. Ein spezifischer Zwischenwirt ist nicht erforderlich; die Larven encystieren sich nach Verlassen der Schnecke irgendwo und kommen mit Futter zufällig in den Darm der Seevögel, woselbst sie sich excystieren, um dann in der Kloake ihre Entwicklung zu vollenden. Die Beschreibung der Art, welche Linton gegeben hat, wird ergänzt. K. Friederichs.

Müller, G. W., Über Mermithiden. (Ztschr. Morph., Ökol. Tiere. Bd. 24. 1931. S. 82—147, 34 Abb.)

Hauptsächlich wird der Bau der Mermithiden dargestellt. Die Ernährung erfolgt nach Verf. durch Osmose; der Vorderdarm ist wegen der Enge der Mundöffnung und des Lumens des Oesophagus (das Lumen kann auch ganz fehlen) und des Fehlens kontraktiler Elemente in der Wand zur Aufnahme von Nahrung ungeeignet. Der Ösophagus liefert aber ein Sekret, das, nach außen abgegeben, Gewebsbestandteile des Wirtes verflüssigt (vorverdaut), die dann osmotisch von dem Wurm aufgenommen werden. Der Ösophagus hat keine Verbindung mit dem Mitteldarm. Die Benennung der Mermithiden-Arten ist schwierig und selbst dann unsicher, wenn man die männlichen Geschlechtsorgane kennt. Verf. ist überzeugt, daß die Mermis-Arten auf eine einzige Art oder auf Vertreter verwandter Formen als Wirte angewiesen sind; wenn angeblich M. albicans in Insekten, Myriapoden, Arachnoideen und Mollusken gefunden worden ist, so vermutet Verf., daß man die verschiedenen Arten nicht unterscheiden konnte, und nennt provisorisch die Würmer aus „Simulia" (Simulium) M. simuliae, die aus Locusta, M. locustae usw., beschreibt auch 2 neue Genera und Arten und Parasiten derselben. K. Friederichs.

Verschiedenes.

Mitsui, Ch., Experimentelle Untersuchungen über die quantitativen Bedingungen der Kontaktinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 113. 1932. S. 390—399.)

Von infizierten Gegenständen kamen bei Berührung zahlreiche Bakterien im allgemeinen nur zur Ablösung, solange das infektiöse Material noch feucht war. Nach dem Trocknen des Materials wurden von den berührenden Fingern von vielen tausenden Keimen immer nur einige wenige abgelöst. Die Berührung mit feuchter Hand führte zu weit stärkerer Ablösung von Keimen von getrockneten Infektionsquellen als die Berührung mit trocknen Fingern. Von infiziertem Glas und Papier erfolgte leichter Keimübertragung auf die berührende Hand als von rohem, nicht polierten Holz und von den Händen. Am leichtesten ging die Keimübertragung vor sich bei Berührung infizierter Leinwand. Rodenkirchen (Duisburg).

Kraus, K. v., Bakterien im elektrischen Kraftfeld. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 64—77.)

Das homogene elektrische Kraftfeld (71 900—76 800 Volt Entladungsspannung) wirkt auf die Bakterien weder wachstumsfördernd noch hemmend noch ändernd im biologischen Verhalten. Zur Prüfung gelangten grampositive und gramnegative, sporogene und asporogene Arten.

Rodenkirchen (Duisburg).

Reed, G. B., and Rice, C. E., The behaviour of acid-fast bacteria in oil and water systems. (Journ. Bact. Vol. 22. 1931. p. 239—247.)

Wurden Emulsionen von Wasser mit fetten Ölen (Olivenöl, Leinöl, Kokosöl, Palmöl, Mineralöl, Ölsäure, Triolein u. a.) mit Bakterien beimpft und kräftig geschüttelt, so gingen die säurefesten Bakterien (am stärksten Mycob. tuberculosis) in die ölige Phase, dagegen die nicht säurefesten Bakterien (B. subtilis, Es. coli, B. Friedländeri und Pf. mallei) in die wässerige Phase. — Durch Zusatz von Kaninchenserum wurde diese Verteilung vom Wasser zum Öl gehindert, bei Zusatz von 50% Immunserum fanden sich nur noch 22% der Bakterien (Mycob. tuberculosis) im Öl. — Eine ähnliche Wirkung wurde auch durch Zusatz emulgierender Mittel wie Gelatine und Na-Oleat erreicht.

Thies (Hannover).

Gross, H., Die Kulturfiltrate der Staphylokokken und deren Beziehungen zueinander. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch u. exper. Therapie. Bd. 73. 1931. S. 14—26.)

Die keimfreien Kulturfiltrate gewisser Staphylokokkenstämme haben u. a. die Fähigkeit, rote Blutkörperchen aufzulösen, Leukozyten zu zerstören, Hautnekrosen und Organschädigungen zu erzeugen, Versuchstiere akut zu töten. Alle diese Eigenschaften werden als charakteristische Merkmale des eigentlichen Staphylokokkentoxins und als Auswirkungen einer antigenen Substanz angesehen. Dafür spricht, daß sie jedes hochwertige Toxin gleichzeitig besitzt, daß sie alle gleich hitzeempfindlich sind und durch antitoxische Immunsera gleichzeitig mehr oder weniger neutralisiert werden können. Der gleichfalls in bestimmten Staphylokokkenkulturfiltraten vorkommende Blutplasmagerinnungsstoff scheint sich qualitativ vom Staphylokokkentoxin zu unterscheiden, und zwar wegen abweichender Thermoresistenz,

wegen zeitlich verschiedenen Auftretens der Filtratstoffe in den Kulturen und wegen Fehlens des die Plasmagerinnung hemmenden Antikörpers im Immunserum. Rodenkirchen (Duisburg).

Wolff, L. K., und **Ras, L.,** Einige Untersuchungen über die mitogenetischen Strahlen von Gurwitsch. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 123. 1932. S. 257—271.)

Bakterien, die als Sender der Strahlen dienen sollen, müssen jung sein und sich in intensiver Teilung befinden (eine 20 Std. alte Staphylokokken-Agarkultur war bereits unwirksam geworden). Als Detektoren eignen sich nur Bakterien im Stadium der Ruheperiode (d. i. zwischen Beimpfung des Nährmediums und Eintritt der ersten Bakterienentwicklung verstreichende sog. prälogarithmische Phase). Die Strahlung führt zu vorzeitiger Bakterienvermehrung; bei langer Dauer kommt es dann zu einem Stillstand in der Vermehrung, schließlich jedoch zu erneutem Wachstum trotz Bestrahlung. In der logarithmischen Phase befindliche Bakterien werden durch die Bestrahlung nicht günstig beeinflußt, da sie selbst Strahlen auf sehr kurze Entfernung aussenden. — Mittels Lichtfilter hat sich ergeben, daß die Wellenlänge der Strahlen unter 235 mμ liegen muß.

Rodenkirchen (Duisburg).

Wolff, L. K., en **Ras, G.,** Eenige onderzoekingen over de mitogenetische stralen van Gurwitsch. (Ned. Tijdschr. Hyg. Microb. Serol. Bd. 6. 1932. p. 265—280.)

Mit Hilfe einer genauen Technik wurde die Erscheinung der Strahlen von Gurwitsch bei Bakterien untersucht und vollkommen bestätigt. Bakterien als Sender: die Bakterien auf der Agarplatte müssen jung und in intensiver Teilung sein. Bakterien als Detektor: ein positives Ergebnis entsteht nur während der prä-logarithmischen Phase. Lange Bestrahlung verursacht, nach einer anfänglichen Beschleunigung, einen Stillstand in der Vermehrung; nach einiger Zeit tritt jedoch wieder eine Vermehrung der Bakterien auf. Dies erklärt wahrscheinlich, daß Bakterien einander in der logarithmischen Phase nicht ungünstig beeinflussen. L. Elion (Haag).

Pfeiler, W., und **Becker,** Einfluß vergaster Kapffscher Säuren auf bakteriologische Nährböden und menschliche Nahrungsmittel. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 122. 1931. S. 545—556.)

Schon nach kurzer Einwirkung der Kapffschen Säuregase verlieren die künstlichen Nährböden ihre Fähigkeit, Bakterien zur Vermehrung zu bringen. Zusatz von Lauge hebt die Säurewirkung wieder auf. Auch begaste Milch wird steril und tötet nach genügend langer Begasungsdauer eingeimpfte Bakterien ab. Fleischwaren bekommen durch die Begasung eine sterile Überschicht, wo dorthin gelangende Bakterien abgetötet werden. Die Wirkung der Säuregase beruht auf der Veränderung des ph-Wertes der Substrate, wodurch den Mikroben die Lebensbedingungen genommen werden. Das Eindringen der Säure in die Substrate ist bereits äußerlich sichtbar durch die Koagulation der Eiweißkolloide: in Nähragar und Bouillon erfolgt Trübung, in der Milch Gerinnung, und bei Wurst und Hackfleisch tritt dunklere Färbung auf. In Nährgelatine bleibt die Koagulation aus infolge Bildung von Schutzkolloiden. Die Abtötung der auf begaste Substanzen gebrachten Bakterien wird gleichfalls durch die Koagulation der Eiweißkolloide bewirkt.

In Nahrungsmitteln entsteht die schützende Säureschicht um so rascher, je schneller ein Nahrungsmittel durch Bakterien zersetzt werden kann.
Rodenkirchen (Duisburg).

Velthorst, H., De conserveerende werking van enkele esters van para-oxybenzoëzuur. (Ned. Tijdschr. Hyg. Microb. Serol. Bd. 7. 1932. S. 58—69.)

Die Ester der para-Oxybenzoesäure, wie Nipagin und Nipasol, sind nach Verf. nicht als ideale Konservierungsmittel zu betrachten. Ihre Wirkung ist zum Teil ungenügend, zum Teil zu unregelmäßig und es hat keinen Zweck, dieselben anstatt der Benzoesäure anzuwenden.
L. Elion (Haag).

Selter, H., u. Fetzer, H., Die wässerige schweflige Säure als Desinfektionsmittel. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 369—376.)

Wässerige Lösungen von schwefliger Säure, hergestellt nach dem Verfahren von Klein aus Natriumthiosulfat und Schwefelsäure (oder deren sauren Salzen) besitzen eine bedeutende bakterizide Wirkung auf Stäbchen und Sporen. Die Wirkung beruht auf der sich in der Lösung abspaltenden freien schwefligen Säure, die in statu nascendi eine viel stärkere Wirksamkeit als das durch Vergasen von Schwefel entstehende Gas entfalten kann.
Rodenkirchen (Duisburg).

Eschenbrenner, H., und Rosenberg, G., Theoretische und praktische Versuche über Anwendung von Nipasol-Natrium als Konservierungsmittel in der Apotheke. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 122. 1931. S. 517—535.)

Es handelt sich um ein in den üblichen Dosen geschmack- und geruchloses Benzoesäurederivat, das auf den menschlichen oder tierischen Körper ohne schädigenden Einfluß ist. Zur Keimtötung genügen 0,2%, in lezithinhaltigen Lösungen 0,3%, dagegen bei Anaerobiern bereits 0,1%! Die Grenze der künstlichen Gewöhnung beträgt 0,5% und ist nur schrittweise (in $^1/_{10}$%) erreichbar. Prüfung im normalen Apothekerbetrieb (die gebrauchten Gefäße wurden nur mit (nicht sterilis.) Aqu. dest. gespült, keine Vorsichtsmaßregel bzl. Sterilhaltung der Gefäße): Bei Entkeimung durch das E. K.-Filter (Seitz) blieb die Hälfte der geprüften Lösungen nur 1 Tag steril. Bei den nicht filtrierten 40 Lösungen wurde 35 mal allein durch Zusatz von Nipasol-Natrium Sterilität erzielt (auch trotz künstlichen Bakterienzusatzes). Filtration und 0,2% Nipasol-Zusatz führten stets zu sicherer Sterilität, die auch erhalten blieb.
Rodenkirchen (Duisburg).

O'Meara, R. A. Q., The mechanism of the Voges-Proskauer reaction and the diacetyl reaction for proteins. (Brit. Journ. Exper. Path. Vol. 12. 1931. p. 346—356.)

It is shown that in the diacetyl reaction a colourless substance is first formed which is subsequently oxidised to form a red colouring matter. Oxygen is essential for colour production but it is considered that the weight of evidence is against the view that acetoin is oxidised to diacetyl as the first step in the V. P. reaction. The substances which give a red colour with acetoin and diacetyl may, with the exception of melanine, be represented by the general formulae $NH : C . NH_2NHR$ and $HN : C . NH_2NRR_1$. The fluorescence observed in the V. P. reaction and in the diacetyl reaction when protein is used is due to interaction between the colouring matter

and some undetermined constituent of the protein molecule. The colouring matters from arginine, creatine and asymmetrical dimethyl guanidine fail to give the fluorescence. Cunningham (Edinburgh).

Shelford, V. E., Some concepts of bioecology. (Ecologie. Vol. 12. 1931. p. 455—467.)

Die Darstellung geht wesentlich darauf aus, die Einheit der pflanzlichen und tierischen Biocönose zu betonen, die als ein Ganzes betrachtet werden müssen. Bloße „Ökologie der Pflanzen" führt zu Irrtümern, da die Vegetation weitgehend durch Tiere beeinflußt wird, während beide, Tiere und Pflanzen von abiotischen Bedingungen abhängen. Als praktische, heuristische Vorstellung erachtet Verf. den Vergleich der gesamten Lebensgemeinschaft (er nennt sie mit einem überflüssig neuen Ausdruck „Biome") mit einem amöboiden Organismus, wachsend, sich bewegend, mit inneren Vorgängen, die dem Stoffwechsel der Organismen vergleichbar sind usw. Säuger und Vögel werden als besonders einflußreich in Land-Biocönosen angesehen, die Abhängigkeit verschiedener Arten derselben von anderen, vor allem die Wirkung des Ausfalls von Raubtieren wird an Beispielen aufgezeigt. Wohl gibt es einiges in dieser Schrift, das die Aufmerksamkeit auch des deutschen Lesers verdient, und dem amerikanischen Leser müssen sicherlich diese Gesichtspunkte vorgehalten werden, aber man kann nur immer wieder bedauern, daß die fehlende Beherrschung fremder Sprachen dem angelsächsischen Biologen die Kenntnis deutscher und skandinavischer Veröffentlichungen zu verschließen pflegt, in denen diese Fragen schon früher ähnlich aber vollständiger behandelt worden sind. K. Friederichs.

Wells, I. R., and Heinbecker, P., The respiratory flora of Eskimos in remote northern regions. (Journ. Infect. Dis. Vol. 50. 1932. p. 281—289.)

Cultures and smears from the throats of 115 apparently healthy Eskimos indicate that, in general, the respiratory flora of these people is very similar to that of persons living elsewhere.

Cunningham (Edinburgh).

Falck, R., Die Scheindestruktion des Koniferenholzes durch die Larven des Hausbockes (Hylotrupes bajulus L.). (Cellulosechemie. Jahrg. 11. 1930. S. 89—91.)

Die Larven des Hausbockes leben in völlig lufttrockenem Holz, das zeitweise auf den Hausböden abnorm hohen Temperaturen ausgesetzt ist. Es wurde im Vacuumtrockenschrank und in der Trockenpistole ein Wassergehalt des Holzes von 9,6% festgestellt. Bei dieser Trockenheit kann das Holz von Pilzen in Jahrhunderte währender Lebensdauer nicht befallen werden; Zerstörungen sind also allein auf Insekten zurückzuführen. Mit der Chlordioxyd-Natriumsulfitmethode von E. Schmidt wurde festgestellt, daß die Larven des Hylotrupes dem Holz, das sie zum Fraß zerkleinern, in ihrem Darm von der Zellulose und der Hemizellulose etwa 21% entziehen, während alle anderen Bestandteile des Holzes unverändert bleiben. Verf. nimmt an, daß dieser Teil der Zellulose in anderer Form wie der übrige Teil im Holz enthalten ist, und zwar unabhängig vom ligningebundenen Teil. Da das von den Larven verdaute Holz keine Verfärbung und keine merkliche Entfestigung sowie keine Aufspaltung des Lignin-Zellulose-Gerüstes aufweist, so nennt Verf. diese Art der Holzzersetzung Schein-

destruktion im Gegensatz zu den „echten Destruktionen", über die er später berichten will. K. Friederichs.

Ries, E., Experimentelle Symbiosestudien. (Ztschr. Morph. Ökol. Tiere. Bd. 25. 1932. S. 184—234, 22 Abb.)

Um das Verhältnis von Wirt und intracellularem Symbionten zu analysieren, bedarf es experimenteller Studien. Mycetome oder anderes symbiontenhaltiges Gewebe von Periplaneta orientalis, Psylla buxi, Pseudococcus citri, Oryzaephilus surinamensis u. a. wurden in den Mehlwurm, solches von Blatta germanica und Sitodrepa panicea in P. orientalis und von letzterer in die Raupe der Mehlmotte transplantiert. Die Methode wird beschrieben.

Von den Transplantationen wurden 90% ohne Schädigung überstanden. Ein Auswachsen der Symbionten in den transplantierten Geweben wurde nicht beobachtet, auch eine Vergrößerung des eingepflanzten Gewebes wurde nicht festgestellt. Die Symbionten reagierten nicht mit bestimmten, wiederkehrenden Wuchs- oder Involutionsformen auf das neue Milieu. Sie blieben meist ohne wesentliche Veränderung der Struktur des Implantats im Wirt erhalten. Ein schädlicher, giftiger Einfluß auf den Wirt machte sich nicht bemerkbar. Diese Unempfindlichkeit gegen fremde Eiweiße und gegen Mikroorganismen ist offenbar eine Grundbedingung für die Entstehung solcher Symbiosen. Einige Zeit nach der Operation beginnt die Melanisierung des Implantats. Es wird vermutet, daß mit dem Absterben von implantiertem Gewebe ein Melanogen frei wird, das aktivierend auf die Tyrosinase des Wirtes wirkt.

Es tritt eine allmähliche Trennung der eingepflanzten von den Wirtsgeweben ein, hervorgerufen durch Bildung einer Zellgrenzschicht, die aus Lymphocyten des Wirtes besteht. K. Friederichs.

Kostoff, D., Studies on the acquired immunity in plants induced by grafting. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 74. 1932. S. 339—346.)

Bei heterogener Pfropfung an bestimmten Solanaceen wurde die Bildung von Präzipitinen und proteolytisch wirksamen Reaktionsstoffen durch die Ringmethode, durch das nephelometrische Verfahren und durch die kolorimetrische Dialysier-Ninhydrinreaktion festgestellt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 27. Oktober 1932.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 87. No. 9/12.
Ausgegeben am 12. Dezember 1932.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Essiggärung und Oxydation höherer Alkohole in zuckerfreier Nährlösung.

[Aus dem Bakteriologisch-chemischen Laboratorium der Technischen Hochschule Hannover.]

Von **Hans Mosel.**

Mit 5 Kurven im Text.

Einleitung.

In den bisherigen zahlreichen Arbeiten über Essiggärung ist die Frage, ob Äthylalkohol den Essigbakterien auch als Nährstoff dienen kann, offen gelassen. Die Säuerungsversuche mit Äthylalkohol und seinen Homologen wurden fast ausschließlich mit Nährlösungen wie z. B. Bier, Würze, Wein und Hefewasser angestellt.

Wurden aber Mineralsalzlösungen zusammengesetzt, um Wachstum und Säuerung zu verfolgen, so erhielten diese neben Alkohol stets Stärkesyrup oder einen gut nährenden Zucker.

Lafar (1), der die frühere Literatur bis 1913 zusammenfaßte, spricht sich dahin aus, daß die Rolle des Alkohols als Baustoff bislang fraglich sei, nach W. Beneckе (2) kommt Alkohol nur als Gärstoff in Betracht, er soll also keine Nahrung für Essigbakterien sein. Ebenso nach W. Kruse (16).

In einer neueren Arbeit prüfte auch Hermann (3) die Wirkung von Essigbakterien auf Alkohole ausschließlich in Hefewasser.

Das viel benutzte 5 proz. Hefewasser enthält in 100 ccm nicht weniger als 0,5 g organische und anorganische Stoffe, die schon an sich eine lebhafte Bakterienentwicklung ermöglichen, so daß unter solchen Bedingungen über die Brauchbarkeit des zugesetzten Alkohols als Baustoff nichts ausgesagt werden kann.

Auf die Vorteile der Anwendung von Nährsalzlösungen, also in ihrer Zusammensetzung klar definierter Flüssigkeiten, wies zwar Krehan (4)[1]) hin, verwendete aber bei der Prüfung des Säuerungsverlaufs von Äthylalkohol und einiger Homologen gleichfalls keine zuckerfreien Lösungen, wodurch auch hier die Frage nach dem Nährwert unentschieden bleibt.

Zusatz von Zucker u. a. hat noch den weiteren Nachteil, daß er zu einer Säurebildung (Glukonsäure) Anlaß geben kann, beim Titrieren der Versuchsflüssigkeit ist die gefundene Azidität also keineswegs notwendig auf Essigsäure zu beziehen; diese könnte erst im Destillat bestimmt werden.

Meine Aufgabe war, das Verhalten von Essigbakterien in einer Lösung festzustellen, die als einzige brauchbare Kohlenstoffquelle einen Alkohol

[1]) Kürzlich arbeitete aber auch Krehan in rein anorganischen Lösungen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 275.) Anmerk. bei Korrektur.

enthält. Dabei machte zunächst die Wahl einer passenden Stickstoffquelle Schwierigkeiten. In alkoholischen Flüssigkeiten mit Nitraten oder Ammoniumsalzen wuchsen die Bakterien nicht. Es zeigte sich aber, daß Asparagin eine geeignete N-Quelle, doch keine C-Quelle war, denn in Asparaginlösungen mit Mineralsalzen fand kein Wachstum der Einsaat statt. Damit war die Grundlage für meine Versuche gegeben.

Um Infektion zu vermeiden, mußte der Beimpfung größte Sorgfalt zugewandt werden, besonders bei Anwendung minderwertiger C-Quellen, da hier die geringe Bakteriensaat erst in 6—14 Tagen durch Vermehrung sichtbar wurde. Neben dem mikroskopischen Bild, dem Aussehen der Hautbildung u. a. war auch die Farbe der Versuchslösung ein Kriterium für die Reinheit. Trat gelbliche Färbung ein, so war die Lösung infiziert und der Versuch mußte wiederholt werden.

Von den aliphatischen Alkoholen wurden benutzt: Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, n-Butyl-, sekundärer und tertiärer Butyl-, Isobutyl- und n-Hexylalkohol, Glykol, Glyzerin und Erythrit, von den aromatischen Alkoholen Benzyl- und β-Phenyläthylalkohol. Anschließend habe ich auch eine Anzahl organischer Säuren auf ihren Nährwert für meine Bakterien geprüft.

Von den hier angeführten Alkoholen waren bisher noch nicht untersucht worden der sekundäre und tertiäre Butylalkohol, Benzyl- und β-Phenyläthylalkohol, die übrigen immer nur in Gegenwart sonstiger organischer Nährstoffe.

An Essigbakterien lag mir zunächst eine selbst isolierte Art vor, die ich wieder verließ, da die Bestimmung unsicher schien, es aber zweckmäßig war, mit bereits bekannten Formen zu arbeiten. Als solche wählte ich dann die beiden Arten B. ascendens Henneberg und B. aceti Hansen, wie sie unter diesen Namen vom Institut für Gärungsgewerbe, Berlin, geführt werden.

Nach der Literatur säuerten in natürlicher Nährlösung: B. ascendens = Äthyl- und Propylalkohol, Glykol. Kohlenhydrate wurden nicht verändert (Henneberg 5, Hermann 3). B. aceti = Äthyl- und Propylalkohol, Glykol, Dextrose (Henneberg 5), Arabinose, Galaktose, Glyzerin, Erythrit, Mannit (Hermann 3).

Die Literatur ist von mir nur soweit berücksichtigt, wie sie die Fragestellung meiner Arbeit angeht. Im übrigen sei hier auf Bernhauer, „Oxydative Gärungen“ 1932, verwiesen.

Die Arbeit wurde im Bakteriologisch-chemischen Laboratorium des Technisch-chemischen Instituts der Technischen Hochschule Hannover ausgeführt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Carl Wehmer, sage ich an dieser Stelle für seine stets bereitwillige und liebenswürdige Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank.

Experimenteller Teil.

I. Kulturversuche.

1. Die untersuchten Bakterien.

Zur Weiterzüchtung wurden B. ascendens und B. aceti zunächst in mit Leitungswasser halb verdünntes Bier übertragen oder auf Bier-Agar-Schrägröhrchen abgestrichen.

a) B. ascendens: In 5- bis 7tägigen Kulturen zeigte das mikroskopische Bild vorwiegend Zellpaare neben vereinzelten kurzen Ketten und einzelnen Zellen (Länge 1,2—1,4 μ, Dicke 1,0—1,2 μ).

Involutionsformen traten selten auf. Die aus Bakterieninseln zusammengewachsene Haut war sehr zart, sie kletterte an den Gefäßwänden etwa 10—12 cm empor, Lösung war getrübt. Das Wachstumsoptimum lag bei 30—31° C. Jodlösung färbte die Haut schwach gelb.

Die Kolonien waren auf festem Nährboden halbkugelig und ganzrandig. In Strichkulturen bildete sich häufig neben dem nach 3 Tagen gut entwickelten Abstrich auf Bieragar ein leichter Schleier.

b) B. aceti: Zum Unterschiede von B. ascendens kletterte B. aceti nicht. Der Zusammenhang der Haut war stärker, die Nährlösung blieb klar. Neben wenigen Kettenverbänden größtenteils paarweise Gliederung. Die Größe schwankte zwischen 1,0—1,3 μ Länge und 0,9—1,1 μ Dicke. Selbst in jungen Zuchten wurde keine Eigenbewegung beobachtet. Jodlösung färbte die Haut schwach gelb.

Gestalt der Kolonien auf Bier-Agar-Nährboden flach und rosettenförmig ausgezackt; ihre Beschaffenheit besonders bei 14—20 tägigen Kulturen wässerig-schleimig.

2. Prüfung der Brauchbarkeit verschiedener Stickstoffverbindungen bei Gegenwart von Äthyl- oder Propylalkohol.

Versuchsanordnung: Etwa 50 ccm fassende Erlenmeyerkölbchen wurden mit je 25 ccm Mineralsalzlösung beschickt (als Grundlösung diente eine Lösung von 2,5 g primärem Kaliumphosphat und 1,25 g Magnesiumsulfat in 1 l dest. Wasser) und mit Watte verschlossen. An 3 aufeinanderfolgenden Tagen wurden die Lösungen je 20 Min. im Dampftopf sterilisiert. Die Beimpfung der Kölbchen geschah mittels Platinöse, gefüllt mit schwacher Bakteriensuspension in dest. Wasser (Abstrich von einer 5- bis 8tägigen Bier-Agar-Kultur).

Als Stickstoffquelle nahm ich Ammoniumnitrat, Kaliumnitrat, Ammoniumsulfat, Ammoniumphosphat, Asparagin, Pepton oder Harnstoff (0,5 g auf 100 ccm Grundlösung), als Kohlenstoffquelle Äthyl- oder Propylalkohol (1 proz.).

Diese Alkohole wurden den 7 verschieden zusammengesetzten Lösungen nach dem Sterilisieren zugesetzt und mit den beiden Bakterien beimpft, Temperatur 30—31° C (Brutschrank). Die Versuchsreihen 1 und 2 bestanden aus je 2 Kölbchen gleicher Lösung jeder Bakterienart.

Reihe 1 beimpft mit B. ascendens, Reihe 2 mit B. aceti:

	NH_4NO_3		KNO_3		$(NH_4)_2SO_4$		$(NH_4)_3PO_4$		Asparagin		Pepton		Harnstoff	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Äthylalkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	+	+	(+)	(+)
Propylalkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	+	+	(+)	(+)

kein Wachstum, ++ Wachstum gut, + schwach, (+) kaum.

Nach 3—5 Tagen zeigte sich beginnendes Wachstum zunächst nur in den Asparaginlösungen, das sich im Verlaufe einer Woche bis zur Bildung einer leichten Haut verstärkte. In Pepton-, besonders aber in Harnstofflösungen war die Entwicklung bedeutend schwächer und erst nach 9 Tagen makroskopisch zu bemerken.

In den Kölbchen, die anorganische Stickstoffquellen enthielten, blieb die Vermehrung der Einsaat noch nach 14 Tagen aus. Nochmalige Beimpfung war erfolglos.

Ergebnis: Äthyl- und Propylalkohol brachten die beiden Bakterien bei Gegenwart von Nitrat- und Ammonstickstoff nicht zur Entwicklung, wohl aber bei Vorhandensein einer organischen Stickstoffquelle. Asparagin erwies sich am geeignetsten.

3. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum der Bakterien.

Wie die obigen Versuche gezeigt haben, ernährte eine Lösung von der Zusammensetzung 1% Äthyl- oder Propylalkohol, 0,5% Asparagin, 0,25% primäres Kaliumphosphat und 0,125% Magnesiumsulfat in dest. Wasser (ph = 4,6) die Bakterien sehr gut.

An Stelle des primären Kaliumphosphates nahm ich versuchsweise das sekundäre Phosphat, der ph-Wert der Lösung betrug nun 7,8.

Je 4 Kölbchen mit je 25 ccm dieser alkalischen Lösung beimpfte ich mit B. ascendens und B. aceti.

Nach 14 Tagen war noch kein Wachstum eingetreten, das auch nach wiederholter Beimpfung ausblieb.

Ergebnis: Trotz der guten Nährstoffe war für die Entwicklung der Bakterien die Reaktion der Lösungen entscheidend. Alkalität verhinderte Vermehrung der Einsaat.

Auch Virtanen (6) betonte schon die Wichtigkeit bestimmter Wasserstoffionenkonzentration für die Oxydierbarkeit von Glyzerin durch sein Bakterium und stellte fest, daß der ph-Wert 5,1—5,6 am günstigsten war.

4. Ist Asparagin auch Kohlenstoffquelle?

Zur Prüfung dieser Frage wurden zwei Versuchsreihen von je drei Kölbchen mit je 25 ccm Nährlösung (0,5% Asparagin, 0,25% KH_2PO_4, 0,125% $MgSO_4 . 7\ H_2O$ in dest. Wasser, ph 4,5) mit beiden Bakterien beimpft.

Nach 14 Tagen war mikro- wie makroskopisch kein Wachstum zu erkennen. Die Kölbchen wurden daraufhin nochmals mit junger Bakteriensuspension beimpft, auch nach weiteren 14 Tagen trat keine Entwicklung ein. Die Wiederholung dieses Versuches (4 Kölbchen) mit Leitungswasser ergab trotz mehrmaliger Beimpfung dasselbe negative Ergebnis.

Schlußfolgerung: Asparagin war also nicht als Kohlenstoffquelle brauchbar, sondern diente den Bakterien nur als Stickstoffquelle.

Krehan (4) fand 1930 bei seinem B. aceti-genoideum Asparagin sowohl als Stickstoff wie als Kohlenstoffquelle verwendbar, ein Zeichen für den unterschiedlichen Nahrungsbedarf der Essigbakterien.

5. Entwicklung in obiger Nährlösung bei Austausch einiger Stoffe.

Die Bakterien vermehrten sich gut in einer Lösung, die neben Asparagin und Äthylalkohol Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat, gelöst in dest. Wasser, enthielt und deren ph 4,6 betrug.

Ließ ich nun Magnesiumsulfat fehlen, so trat kein Wachstum mehr ein. Der Ersatz des Magnesiumsulfats und dest. Wassers durch Leitungswasser bewirkte ein schnelleres und besseres Wachstum[1]).

Versuch: Je 4 Kölbchen à 25 ccm Nährlösung (1% Äthylalkohol, 0,5% Asparagin, 0,25% KH_2PO_4, dest. Wasser) wurden je mit B. ascendens und B. aceti beimpft. Die Lösungen blieben noch nach 3 Wochen klar (Entwicklung null).

Versuch: Je 4 Kölbchen, die statt des dest. Wassers Leitungswasser enthielten, wurden beimpft. Die Lösungen zeigten nach 3 Tagen beginnende Vermehrung, nach weiteren 3—4 Tagen leichte Hautbildung.

Ergebnis: Bei Verwendung von Leitungswasser konnte Magnesiumsulfat entbehrt werden, der Gehalt desselben an den verschiedenen Salzen wirkte wachstumsfördernd.

Nach Beijerinck (7) ermöglichte der Austausch von Leitungswasser durch dest. Wasser nur dann Entwicklung, wenn diesem etwas Essigsäure zugesetzt worden war.

II. Vergärung in alkoholischer, zuckerfreier Lösung.

A. Säuerungsversuche mit einwertigen Alkoholen und deren Einfluß auf das Wachstum der Bakterien.

Versuche mit obengenannten Alkoholen als alleiniger Kohlenstoffquelle in Nährlösungen mit 0,5% Asparagin, 0,25% KH_2PO_4, 0,125% $MgSO_4 . 7 H_2O$ in dest. und Leitungswasser, dieses ohne Zusatz von $MgSO_4$. (Alle Präparate von C. A. F. Kahlbaum, A.-G., Berlin.)

Versuchsanordnung: Nach einigen orientierenden Wachstumsversuchen wurden Versuche mit 100 bzw. 200 ccm Nährlösung in entsprechend großen Erlenmeyer-Kolben (Höhe der Flüssigkeit 1½—2 cm) bei 30—31° C angesetzt. Nach dem Sterilisieren wurde die Kohlenstoffquelle den Kolben mit sterilen Pipetten zugefügt und der Flüssigkeitsgehalt so gewählt, daß nach dem Hinzugeben der C-Quelle der Kolbeninhalt genau 100 bzw. 200 ccm betrug. Je nach dem Wachstum der Bakterien steigerte ich die Konzentration der Kohlenstoffnahrung von 1% auf 2, 4, 8 und 12%. Jede Versuchsreihe bestand aus je 4 Kolben Nährlösung und zwar a) für Nährlösung mit dest. Wasser, b) für Nährlösung mit Leitungswasser ohne $MgSO_4$-Zusatz. Je 2 Kolben wurden mit B. ascendens und B. aceti geimpft.

Züchtung der Bakterien: Die beiden Bakterienarten impfte ich von einer natürlichen Nährlösung auf genannte Mineralsalzlösung, der 1% Äthylalkohol zugesetzt worden war, über. Nach 8 Tagen

[1]) Hannoversches Leitungswasser (Ricklingen) enthält i. M. in 1 l an mg: 160 CaO, 135 Cl, 122,6 SO_3, 40,5 MgO, 0,13 Fe_2O_3 (nach freundlicher Mitteilung des Herrn K. Kamphausen).

Die Frage der Mineralsalzbedeutung ist kürzlich von Krehan genauer verfolgt, s. Note 1 auf S. 1 (Anm. bei Korrektur).

wurden sie auf einen 2proz. Äthylalkohol-Mineralsalzschrägagar abgestrichen. Die nach etwa 8 Tagen gut angewachsenen Kulturen verwandte ich in schwacher wässeriger Suspension zur Beimpfung mittels Platinöse.

Auf diesem Nährboden erhielten sich die Bakterien jahrelang lebenskräftig und wurden für die ausgeführten Versuche nur diesen Kulturen nach 6—8tägigem Wachstum entnommen.

Bestimmung des Säuerungsverlaufs durch Titration: Sobald in den einzelnen Versuchsreihen nach einigen Tagen Entwicklung sichtbar wurde, entnahm ich den Kolben in gleichen Zeitabständen mit sterilen Pipetten je 10 ccm Lösung, die nach Verdünnung mit dest. Wasser mit n/10 KOH (Indikator Phenolphthalein) titriert wurde. Während des laufenden Versuchs wurde jeder Kolben zu etwa 5 Titrationsentnahmen herangezogen. Die in den Tabellen eingesetzten Zahlen geben die Azidität von 10 ccm-Versuchslösung zur Zeit der Entnahme an, sie gelten abzüglich der Anfangsazidität der Nährlösung (10 ccm neutralisieren 9 ccm n/10 KOH).

1. Methylalkohol.

Methylalkohol wurde den Versuchskolben, deren sterilisierter Inhalt aus je 50 ccm Mineralsalzlösung a) dest. Wasser, b) Leitungswasser bestand, in 0,5 und 1proz. Konzentration zugegeben. Die beimpften Lösungen zeigten nach 3 Wochen mikro- wie makroskopisch keine Vermehrung und unveränderte Azidität. Nochmaliges Beimpfen blieb erfolglos.

Im 2proz. Hefewasser entwickelten sich die Einsaaten bei Zusatz von 2% Methylalkohol nach 1 Woche, ohne aber den Alkohol zu säuern.

Ergebnis: Die beiden Bakterienarten konnten ihren Kohlenstoffbedarf durch Methylalkohol nicht decken, dieser verhinderte aber nicht ihre Entwicklung im Hefewasser.

Auch frühere Untersucher fanden keine Säuerung des Methylalkohols, nur Krehan (4) will das in Wein festgestellt haben, die Art der Säure wurde aber nicht bestimmt.

2. Äthylalkohol mit B. ascendens.

Angewandt: Äthylalkohol 95 Vol.-proz.; 1 ccm enthält 0,7553 g Alkohol, die oxydiert, theoretisch 0,9846 g Essigsäure ergeben würden. 1 ccm n/10 KOH neutralisiert 0,006 g Essigsäure. Den Säuerungsverlauf prüfte ich in 1-, 2-, 4-, 8- und 12proz. Konzentration.

1. Versuchsreihe: 99 ccm Nährlösung sterilisiert, + 1% Äthylalkohol, beimpft.

a) Am 3. Tage beginnendes Wachstum, das im Verlaufe 1 Woche zu einer leicht zusammenhängenden, zarten Haut gediehen war. Als Zeichen guter Entwicklung begann das Klettern der Haut an den Gefäßwänden bis zu einer Höhe von 10—12 cm nach 3—4 Wochen. Die Lösung war schwach getrübt, Bodensatz gering:

Titration: Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
4	0,11	0,25	0,007	0,012
7	0,35	0,65	0,02	0,03
13	7,25	8,05	**0,43**	**0,48**
20	1,75	1,15	0,1	0,07
24	0,25	0,2	0,01	0,01

Sollmenge: 0,9848 g Essigsäure; Istmenge: 0,48 g Essigsäure (48,7 %der theoretischen Ausbeute). In 13 Tagen wurde

der Höchstgehalt an Essigsäure gebildet und diese in den folgenden 11 Tagen nahezu verbraucht.

b) B. ascendens wuchs in 3 Tagen besser an als im vorigen Versuch.

Titration: Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
4	0,35	0,15	0,02	0,01
7	2,75	2,45	0,17	0,15
10	7,95	8,35	**0,48**	**0,5**
14	2,05	1,55	0,12	0,08
20	0,05	0,05	—	—

Istmenge: 0,5 g Essigsäure. Höchstmenge an gebildeter Säure 0,5%, entsprechend 50,7% der Umwandlung des Gesamtalkohols.

Die beiden Versuchsreihen zeigten, daß 1. B. ascendens in Nährlösung mit Leitungswasser besser gedieh als mit dest. Wasser, 2. das Maximum an Säure in 1 a) in 13 Tagen, in 1 b) in 10 Tagen erreicht war, 3. Bildung und Aufzehrung der Säure in ungefähr gleichen Zeiträumen geschah. Es überrascht die niedrige Ausbeute an Essigsäure und es bleibt zu prüfen, weshalb durch Titration der Umsatz des Alkohols in Säure nur etwa zur Hälfte erfaßt werden konnte.

Krehan (4) ermittelte in seiner Berechnung der Alkoholbilanz und der tatsächlich gebildeten Essigsäurehöchstmenge die Ausbeute zu 91%. Den Säuerungsverlauf verfolgte er aber in einer Mineralsalzlösung, die neben 6 Vol.-proz. absoluten Alkohols 1% Dextrose, 0,02 n KH_2PO_4, 0,04 n $Ca(H_2PO_4)_2$ und 0,03 n Asparagin enthielt. Erst im Verlauf von 3 Monaten bildete sein B. aceti-genoideum die Höchstsäuremenge, ohne die Säure zu verbrauchen.

Nach meinen kontrollierenden Verdunstungsversuchen, die ich am Schluß des Abschnittes II bespreche und die ich zur Ermittlung des Verlustes an Alkohol und Wasser ausgeführt habe, überschritt in einer 4proz. Äthylalkohollösung der Verlust an Alkohol schon nach etwa 6 Wochen den Betrag von 25%. Der Alkoholverlust von nur 9% bei Krehan erscheint mir während einer Versuchsdauer von 3 Monaten etwas niedrig gegriffen, zumal auch die Verdunstung des Wassers nicht berücksichtigt worden ist; es handelt sich da wohl nicht nur um Essigsäure.

2. Versuchsreihe: 2 ccm Äthylalkohol. Die Aussaat entwickelte sich allmählich in 3—4 Tagen, nach weiteren 2 Tagen gut beginnendes Klettern, schwach trübe Lösung, geringer Bodensatz.

Titration: Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
7	1,35	1,25	0,08	0,075
15	2,25	2,15	0,14	0,13
20	13,25	13,15	**0,8**	**0,79**
27	1,45	1,05	0,09	0,06
32	keine Säure mehr vorhanden			

Sollmenge: 1,9692 g Essigsäure; Istmenge: 0,8 g (40,38% der theoretischen Ausbeute).

b) In 7 Tagen gute Entwicklung, innerhalb 1 Woche hatte sich eine zarte Haut gebildet, gutes Klettern, trübe Lösung, geringer Bodensatz.

Titration: Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
7	4,55	3,85	0,27	0,23
10	13,35	14,35	**0,8**	**0,86**
14	8,65	9,05	**0,52**	0,54
17	1,65	1,25	0,1	0,08
25	0,25	0,11	0,015	0,007

Istmenge: 0,861 g Essigsäure (43,73% der Theorie).

Die Säuerung des 2proz. Alkohols verlief in Versuch 2 b) bedeutend schneller als in 2 a), wo die Höchstsäuremenge erst 10 Tage später erreicht wurde. In Versuch 2 b) verbrauchte das Bakterium den Alkohol in derselben Zeit wie den 1prozentigen.

3. Versuchsreihe: 4 ccm Äthylalkohol.

a) Beginnendes Wachstum in 5 Tagen, sehr zarte Hautbildung in 7 Tagen, schwaches Klettern, das im Verlaufe von 4 Wochen 7—8 cm Höhe erreichte.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	8	2,65	2,05	0,16	0,12
	15	15,25	15,35	0,92	0,92
	20	37,35	36,75	**2,24**	**2,21**
	27	8,55	10,35	0,51	0,62
	34	0,95	1,65	0,06	0,1

Sollmenge: 3,9384 g Essigsäure; Istmenge: 2,24 g (56,9% der Theorie).

b) Vermehrung der Einsaat in 4 Tagen, gute Weiterentwicklung.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	7	9,55	8,05	0,57	0,48
	10	27,75	26,05	1,67	1,56
	14	39,95	39,15	**2,4**	**2,35**
	20	8,55	9,65	0,51	0,58
	27	3,95	4,05	0,24	0,24
	30	0,35	1,45	0,02	0,09

Istmenge: 2,4 g Essigsäure (60,8% der Theorie).

Die höhere Konzentration des Äthylalkohols verschob den Zeitpunkt des beginnenden Wachstums um 1—2 Tage. Bezüglich des Säuerungsverlaufs machte sich eine hemmende Wirkung des 4proz. Alkohols nicht bemerkbar.

4. Versuchsreihe: 8 ccm Alkohol: a) Das Anwachsen der Einsaat verzögerte sich im Vergleich zur 3. Versuchsreihe um 3—4 Tage. Erst am 8. Tage bildeten sich kleine Bakterieninseln auf der Oberfläche der Lösung.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsaure	
	11	1,35	0,95	0,08	0,06
	18	7,65	7,15	0,46	0,43
	26	23,25	23,95	1,29	1,44
	33	32,75	35,85	1,97	2,15
	40	43,95	43,05	**2,64**	**2,58**

(Die Versuche wurden abgebrochen und mit der doppelten Flüssigkeitsmenge wiederholt.)

Sollmenge: 7,877 g Essigsäure; Istmenge: 2,64 g (33,48% der Theorie).

b) B. ascendens wuchs in 7 Tagen an, am 11. Tage hatte sich eine zarte Haut gebildet, die langsam zu klettern begann.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	11	1,65	1,15	0,1	0,07
	18	7,95	7,65	0,48	0,46
	26	26,05	24,95	1,56	1,5
	33	37,65	35,75	2,26	2,15
	40	49,35	47,35	**2,96**	**2,84**

Istmenge: 2,96 g Essigsäure (37,58% der Theorie).

In 8proz. Konzentration trat die wachstumshemmende Wirkung des Alkohols auffallend in Erscheinung. Die Titrationswerte von 4 a) und 4 b) näherten sich einander sehr. Noch nach fast 6 Wochen stieg die Säurekonzentration. Die Tätigkeit der Bakterien beschränkte sich in erster Linie auf die Bildung der Säure und nicht mehr so sehr auf deren Verbrauch, der in 1—4proz. Lösungen in erheblicher Weise neben der ersteren hervortritt, wie das durch spätere Versuche bewiesen wird.

5. Versuchsreihe: Zur Vervollständigung der abgebrochenen Versuche setzte ich weitere mit 8% Alkohol und 184 ccm Flüssigkeit an, die erst nach Ablauf der 8. Woche titriert wurden. In der 4. Versuchsreihe war nach 5 Entnahmen nur ein etwa 34 ccm betragender Rest übrig geblieben, der wegen der bedeutend größeren Verdunstung nicht mehr zu Titrationen verwandt wurde.

a) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsaure	
	56	63,35	68,05	**3,8**	**4,08**
	63	57,65	62,75	3,46	3,77
	77	36,75	38,65	2,21	2,32

Istmenge: 4,08 g Essigsäure (51,84% der Theorie).

b) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	56	71,35	68,45	**4,28**	**4,1**
	63	58,35	61,65	3,5	3,7
	77	31,75	38,95	1,9	2,35

Istmenge: 4,28 g Essigsäure (54,35% der Theorie).

Das Säuremaximum betrug in 8 Wochen 4,08 g bei Verwendung von dest. Wasser, 4,28 g bei Leitungswasser. Der höhere Wert des letzteren trat also bei 8% Alkohol nicht mehr deutlich hervor. Das Wiederverschwinden der Säure schritt sehr langsam fort, in 3 Wochen waren von der durch Titration erfaßten Menge 2,38% bzw. 1,76% abgebaut worden. Der verbleibende Rest würde voraussichtlich in weiteren 5—6 Wochen aufgezehrt worden sein.

6. Versuchsreihe: 12 ccm Äthylalkohol. Entwicklung konnte bei dieser Konzentration innerhalb von 14 Tagen nicht aufkommen. Ein nochmaliges Beimpfen zeitigte nach Verlauf 1 Woche sehr geringes Wachstum. Durch die Verdunstung von Alkohol war die Konzentration geringer geworden, und die kleine Anzahl der Bakterien vermochte ihn jetzt zu verarbeiten.

Um die Einsaat schneller anwachsen zu lassen, wurde ihnen in neu angesetzten Versuchen zuerst 2% Alkohol zugemessen und nach 6 Tagen, nachdem sich eine leichte Haut bilden konnte, weitere 10 ccm Alkohol hinzugefügt. Jetzt trat die Giftwirkung des Alkohols nicht mehr wachstumshindernd in Erscheinung.

a) 88 ccm Nährlösung + 2 ccm Alkohol, nach 6 Tagen weitere 10 ccm Alkohol.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	10	3,55	2,45	0,21	0,15
	18	10,25	8,05	0,62	0,48
	27	22,75	20,65	1,37	1,25
	44	46,97	43,45	**2,82**	**2,6**

Sollmenge: 11,815 g Essigsäure; Istmenge: 2,82 g (23,9% der Theorie).

b) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	10	4,05	5,35	0,24	0,32
	18	11,95	12,75	0,72	0,76
	27	26,05	28,55	1,56	1,71
	44	52,55	55,75	**3,15**	**3,35**

Istmenge: 3,35 g Essigsäure (28,35% der Theorie).

7. Versuchsreihe: In diesen Versuchen titrierte ich den Kolbeninhalt erst nach 2 Monaten. Lösung wie bei 6 a) und 6 b).

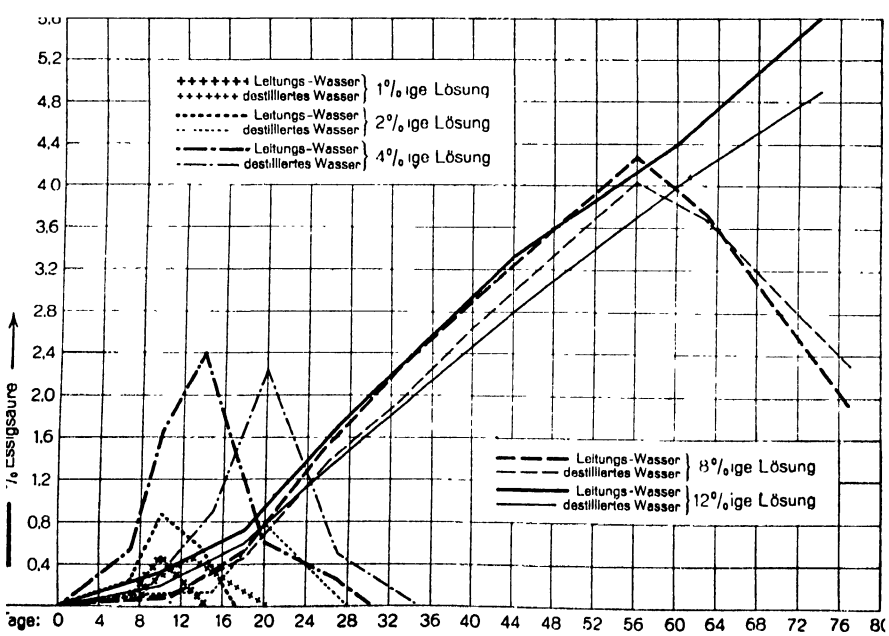
a) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	60	73,85	69,15	4,43	4,14
	75	88,55	82,75	**5,31**	**4,97**

Istmenge: 5,31 g Säure (44,97% der Theorie).

b) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	60	78,75	80,35	4,73	4,82
	75	100,55	93,85	**6,03**	**5,63**

Istmenge: 6,03 g Essigsäure (51,04% der Theorie).

Die Säuerung des Äthylalkohols durch B. ascendens verlief hier in 12proz. Konzentration durch die Anreicherung der Bakterien in 2% Alkohol gleichmäßig ansteigend und erreichte in 2½ Monaten 5,31% bzw. 6,03% Essigsäure. Das Maximum war in dieser Zeit noch nicht gebildet worden.



Kurve 1. B. ascendens.
Säuerungsverlauf in 1, 2, 4, 8 und 12 proz. Äthylalkohol-Mineralsalzlösung.

Zusammenfassung. B. ascendens verarbeitete den Äthylalkohol bei kleinster Bakterieneinsaat in 1—8 proz. Konzentration zu Essigsäure, die schon bei Gegenwart von Alkohol wieder verbraucht wurde. 12% Alkohol verhinderte die Vermehrung, nicht aber bei fraktionierter Zugabe. In 1—2% Alkohol gediehen die Bakterien in 3—4 Tagen, in 4% Alkohol in 4—5 Tagen, 8% ließ sie erst in 8 Tagen langsam zur Entwicklung kommen, zeigte sich also schon merklich wachstumshemmend. Leitungswasser förderte die Vegetation, die Bakterien wuchsen schneller an und erzeugten in kürzerer Zeit ein Mehr an Säure. Größere Alkoholmengen bedingten bei gleicher Bakteriensaat größere Säuremengen in entsprechend größeren Zeitabschnitten. Für die relativ geringe Ausbeute sind verschiedene Faktoren verantwortlich zu machen, und zwar geht 1. Alkohol durch Verdunstung verloren, 2. wird ein Teil des Alkohols, da er ja Nährstoff ist, als Bakteriensubstanz festgelegt und 3. verarbeiten die Bakterien die gebildete Säure wieder.

Die Säuerung des Alkohols nahm in allen Konzentrationen einen dreiteiligen Verlauf (Kurve 1). Ihre Bildung setzte nach der Beimpfung in 3 bis 8 Tagen langsam ein, stieg in den Konzentrationen bis 4% sehr schnell, in denjenigen von 8—12% langsamer an, ihr Verbrauch geschah in ungefähr derselben Zeit, die zur Erreichung des Säuremaximums nötig war.

Hoyer (8), Janke (9) und Krehan (4) stellten ebenfalls die Dreiteiligkeit der Säuerungskurve fest, im Gegensatz zu Perold (10), der sie zweiteilig fand.

2. Äthylalkohol mit B. aceti (Kurve 2).

Die Säuerung wurde ebenfalls in 1, 2, 4, 8 und 12 proz. Konzentration geprüft.

1. Versuchsreihe: 99 ccm Nährlösung sterilisiert, + 1 ccm Äthylalkohol.

a) Impfung wuchs in 3—4 Tagen an und zeigte sich gut entwickelnde Hautbildung, Lösung klar, Bodensatz gering; B. aceti kletterte nicht.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	7	0,75	0,55	0,05	0,03
	13	7,55	6,95	**0,45**	**0,42**
	20	2,55	1,85	0,15	0,11
	24	keine Säure mehr vorhanden			

Istmenge: 0,45 g Essigsäure (46% der berechn. Ausbeute).

b) Anwachsen in 3 Tagen, gute Entwicklung.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	7	1,65	1,35	0,1	0,08
	10	7,45	7,15	**0,45**	**0,43**
	16	2,35	2,95	0,14	0,18
	20	keine Säure mehr vorhanden			

Istmenge: 0,447 g Essigsäure (45,4%). Höchstsäuremenge war hier in 3 Tagen eher erreicht als in 1 a.

2. Versuchsreihe: 2 ccm Äthylalkohol.

a) Wachstum in 4 Tagen, Hautbildung in 10 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	7	1,05	1,35	0,06	0,08
	14	2,35	3,45	0,14	0,21
	20	11,75	12,95	**0,71**	**0,78**
	24	7,95	5,05	0,48	0,3
	28	2,75	0,95	0,17	0,06
	35	keine Säure mehr vorhanden			

Istmenge: 0,78g Essigsäure (39,4% der Theorie).

b) Die Aussaat wuchs in 3 Tagen an.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	7	4,35	4,25	0,26	0,25
	14	13,35	12,05	**0,8**	**0,75**
	20	7,95	6,85	0,48	0,41
	24	1,35	—	0,08	—
	28	keine Säure mehr vorhanden			

Istmenge: 0,8 g Essigsäure (40,7% der Theorie).

Das Maximum war in 2 b um 6 Tage schneller erreicht als in 2 a.

3. Versuchsreihe: 4 ccm Äthylalkohol.

a) Gute Entwicklung in 5 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	10	2,15	2,25	0,13	0,14
	17	11,65	13,35	0,67	0,8
	22	31,95	36,95	**1,92**	**2,22**
	27	18,35	20,05	1,1	1,2
	35	11,75	11,05	0,71	0,66
	42	1,95	1,15	0,12	0,09

Istmenge: 2,22 g Essigsäure (56,3%).

b) Einsaat entwickelte sich in 4—5 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	10	5,35	6,75	0,32	0,41
	17	19,55	20,95	1,17	1,26
	22	39,25	41,75	**2,36**	**2,51**
	27	17,95	19,95	1,08	1,2
	35	7,15	8,75	0,43	0,53

Istmenge: 2,51 g Essigsäure (63,6%).

B. aceti zeigte langsamere Säuerung als B. ascendens. Auch die Wiederzersetzung war um 8—12 Tage später vollendet.

4. Versuchsreihe: 8 ccm Äthylalkohol.

a) Allmähliches Wachstum in 10 Tagen, die Vermehrung vollzog sich langsam, nach 18 Tagen hatte sich eine leichte Haut gebildet.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	16	2,75	3,85	0,17	0,23
	22	8,35	10,65	0,5	0,64
	27	21,95	22,55	1,31	1,35
	33	29,35	30,15	1,76	1,81
	40	38,95	39,75	**2,34**	**2,39**

Versuche wurden abgebrochen und durch andere ergänzt.

b) Entwicklung in 9 Tagen, Hautbildung in 15 Tagen, die Lösung blieb klar.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	16	3,85	3,35	0,23	0,2
	22	10,75	11,35	0,65	0,68
	27	24,35	24,55	1,46	1,47
	33	35,75	36,55	2,15	2,19
	40	44,97	45,35	**2,7**	**2,72**

In 40 Tagen Bildung von 2,72% Essigsäure. (Versuche abgebrochen.)

5. Versuchsreihe: Die Versuche mit 8 proz. Alkohol wurden mit der doppelten Flüssigkeitsmenge wiederholt und nach 8, 9 und 11 Wochen titriert.

a) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	56	66,95	64,05	**4,02**	**3,84**
	63	60,95	59,0	3,66	3,54
	77	43,75	38,55	2,63	2,91

Höchster Säuregehalt 4,02% (51%).

b) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	56	67,65	70,55	**4,05**	**4,23**
	63	59,75	55,65	3,59	3,34
	77	40,55	38,85	2,43	2,33

Höchster Säuregehalt 4,23% (53,74% der Theorie).

6. Versuchsreihe: 12 ccm Äthylalkohol. In 2 Vorversuchen wurde geprüft, ob B. aceti sich in 12 proz. Alkohol vermehren konnte. 44 ccm Nährlösung, + 6 ccm Alkohol, beimpft. In 3 Wochen war kein Wachstum eingetreten. Ebenso wie bei B. ascendens wurde nun der Alkohol fraktioniert zugegeben. 88 ccm Nährlösung, + 2 ccm Alkohol, nach 6 Tagen weitere 10 ccm Alkohol.

a) Vermehrung schritt langsam fort, leichte Hautbildung in 20 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsaure	
	10	1,75	2,35	0,11	0,14
	17	3,85	4,55	0,23	0,27
	24	10,95	11,35	0,66	0,68
	33	25,75	26,65	1,55	1,6
	40	32,85	34,15	**1,97**	**2,05**

Istmenge: 2,05% Essigsäure in 40 Tagen, Versuche abgebrochen.

b) Ebenfalls sich langsam entwickelndes Wachstum.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	10	2,05	1,65	0,12	0,1
	17	4,55	5,35	0,27	0,32
	24	13,85	14,25	0,83	0,86
	33	26,65	26,75	1,6	1,61
	40	34,75	35,05	**2,1**	**2,13**

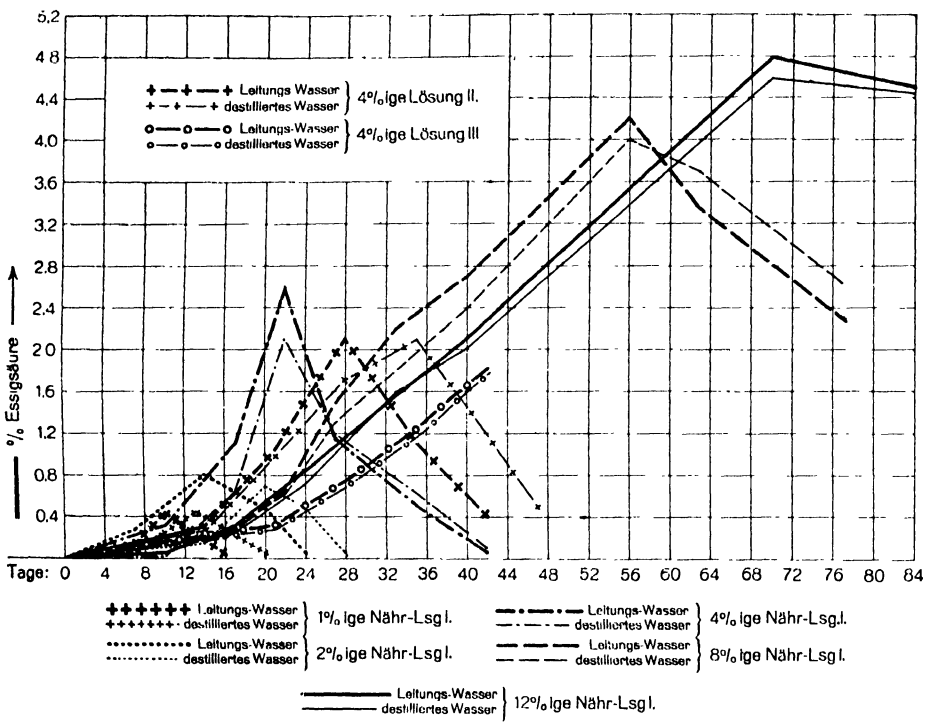
Azidität betrug nach 40 Tagen nur 2,1%.

7. Versuchsreihe: 176 ccm Nährlösung. 4,4 ccm Alkohol, beimpft; nach 6 Tagen + 20 ccm Alkohol.

a) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	70	76,85	68,65	**4,61**	**4,11**
	84	73,85	62,35	4,43	3,74

In 10 Wochen war die Höchstmenge erreicht (39,02%), in weiteren 2 Wochen wurde die Säure um 0,2% abgebaut.

b) Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	70	79,75	73,05	**4,79**	**4,39**
	84	74,55	69,75	4,47	4,19



Kurve 2. B. aceti.
Säuerungsverlauf in 1, 2, 4, 8 und 12 proz. Äthylalkohol-Mineralsalzlösung.

Ergebnis: Zum Unterschiede von B. ascendens, das nach Ablauf von 10 Wochen die Höchstmenge Säure noch nicht gebildet hatte, baute B. aceti nach dieser Zeit die Säure langsam ab und erzeugte nur eine Konzentration von 4,79%. Auch hier konnte der zugesetzte Alkohol nur zu etwa 40—60% durch Titration als Säure nachgewiesen werden, was aus den oben (S. 203) angeführten Gründen zu erklären ist.

Außer durch blinde Verdunstungsversuche stellte ich die Größe der Verdunstung in Versuchen fest, die ich in Hefewasser mit einem aus einer faulen Birne gezüchteten Bakterium ansetzte, das vielleicht infolge der abweichenden Ernährungsbedingungen die gebildete Essigsäure nicht verbrauchte.

Verdunstungsversuch: In 2 Erlenmeyerkolben mit je 95 ccm 2 proz. Hefewasser gab ich nach dem Sterilisieren und der Beimpfung je 5 ccm Äthylalkohol. Die Einsaat entwickelte sich am nächsten Tage, in 3—4 Tagen entstand eine leichte Haut.

Titration	Tage	Verbrauch an ccm KOH	% Essigsäure
(Mittelwert):	4	2,8	0,17
	9	27,2	1,63
	14	48,3	2,9
	24	51.6	3,1
	30	62,5	3,75
	36	62,8	3,78

Nach weiteren 5 Wochen erhöhte sich der Säuregehalt nicht merklich. Die gebildete Säure wurde also nach 10 Wochen nicht wieder zersetzt.

Sollmenge: 4,92 g Essigsäure; Istmenge: 3,75 g (76,2% der theoretischen Ausbeute).

In diesen Versuchen wurde also eine wesentlich höhere Ausbeute als in den zuckerfreien Nährlösungen erzielt und gezeigt, daß 24% des zugesetzten Alkohols innerhalb von 5 Wochen verdunstet waren, ein anderer Grund für sein Verschwinden kam unter diesen Bedingungen nicht in Frage.

Aus dem Vergleiche der hier erhaltenen Ausbeute von 76% zu derjenigen von Versuch II 3 b (4% Alkohol, Leitungswasser und B. ascendens) von 60,8% ist zu ersehen, daß in diesem Versuch von etwa 39% nicht als Säure erfaßten Alkohols 24% auf das Konto der Verdunstung zu setzen und die restlichen 15% als Verlust durch Aufbau der Bakteriensubstanz und Verbrauch der Essigsäure zu betrachten sind.

An dieser Stelle mochte ich nicht unerwähnt lassen, daß die verschiedene Beurteilung des Hefewassers als Nährlösung für Essigbakterien großtenteils auf die Art seiner Herstellung und weiteren Behandlung zurückzuführen ist.

Mit gleichen Bakterienstämmen habe auch ich gute und schlechte Entwicklung wahrgenommen und kann abschließend sagen, daß Hefewasser ein gutes Nährsubstrat ist, wenn folgende Punkte streng beachtet werden:

1. kurzes Aufkochen der frischen Backereihefe, schnelles Absitzenlassen evtl. unter Kühlung, besonders im Sommer;

2. nach dem Dekantieren Klärung mit wenig Eiweiß ($\frac{1}{2}$ Ei auf 4 l) und ganz schwacher Ansauerung mit Essig-, Bernstein- oder Milchsäure auf ph 4—6. Das Anbrennen von Eiweiß auf dem Boden des Glaskolbens ist durch ständiges, ruhiges Schütteln über kleiner Flamme oder besser durch Erhitzen des Kolbens im Wasserbade zu vermeiden.

3. Das auf 5—10% mit Leitungswasser verdünnte Hefewasser, ph 4—6, darf jedesmal höchstens 20 Min. im Dampftopf sterilisiert werden.

Jede Hefewasserlösung, die nicht hellgelb ist, sondern einen leichten bräunlichen Farbton zeigt, ist als Nährlösung für Essigbakterien zu verwerfen.

3. normaler Propylalkohol mit B. ascendens (Kurve 3).

Angewandt: n-Propylalkohol, $CH_3.CH_2.CH_2.OH$, chemisch rein. 1 ccm Propylalkohol ergibt theoretisch 0,991 g Propionsäure, 1 ccm n/10 KOH entspricht 0,0074 g Propionsäure.

1. Versuchsreihe: 99 ccm Nährlösung sterilisiert, + 1 ccm Propylalkohol, beimpft.

a) Nach 3 Tagen beginnendes Wachstum, schwaches Klettern, schwach trübe Lösung. In 8 Tagen hatte sich eine leichte Haut gebildet.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	7	3,85	3,45	0,29	0,26
	11	9,15	8,55	0,68	0,63
	18	9,25	8,6	0,68	0,63

Sollmenge: 0,991 g Säure; Istmenge: 0,68 g (68,3% der Theorie).

Nach 11 Tagen war die Bildung von Säure auf ihrem Höhepunkt angelangt. Am 18. Tage wurden 2 ccm Propylalkohol den Lösungen zugemessen. Die Titration ergab nach Verlauf einer Woche keine Säurezunahme.

b) Nach 3 Tagen beginnende Entwicklung, in 7 Tagen schwache Hautbildung.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	7	4,55	4,15	0,34	0,31
	11	10,75	10,65	**0,8**	**0,79**
	18	10,85	10,85	0,8	0,8

Istmenge: 0,8 g Säure (80,2% der Theorie).

Es entstand in 1 proz. Propylalkohol in 11Tagen die größte Säuremenge, die nicht wieder abnahm. Ein weiterer Zusatz von 2 ccm Propylalkohol ergab keine Steigerung der Azidität. Der Zusatz hemmte die Lebenstätigkeit von B. ascendens.

2. Versuchsreihe: 2 ccm Propylalkohol.

a) Vermehrung nach 8 Tagen, die langsam fortschritt. Schwaches Klettern nach 10—11 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	17	3,55	3,75	0,26	0,28
	27	13,25	13,55	0,98	0,99
	35	15,25	15,65	**1,13**	**1,16**

Nach weiteren 2 Wochen keine Säurezunahme.

Sollmenge: 1,982 g Säure, Istmenge: 1,16 g (58,4% der Theorie).

Propylalkohol wirkte also schon in 2 proz. Konzentration stark wachstumshemmend. Erst nach 35 Tagen war die größte Azidität gebildet.

b) Nach 5 Tagen beginnendes Wachstum.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Saure	
	7	4,55	4,35	0,34	0,32
	11	12,95	12,85	0,96	0,95
	17	17,65	17,55	1,31	1,3
	28	18,85	18,55	**1,4**	**1,37**
	35	19,05	18,95	1,41	1,4

Nach weiteren 2 Wochen nur geringe Säurezunahme, die auf die Verdunstung von Wasser zurückzuführen ist. Istmenge: 1,4 g Säure (70,4% der Theorie).

Der 2 proz. Propylalkohol wurde hier 7 Tage schneller oxydiert und mit höherer Ausbeute als in 2 a. Leitungswasser minderte anscheinend die giftige Wirkung des 2 proz. Alkohols.

3. Versuchsreihe: 3 ccm Propylalkohol: In 3 Wochen war in beiden Lösungen a) und b) keine Entwicklung zu bemerken. 3 proz. Propylalkohol verhinderte also das Wachstum.

4. Versuchsreihe: Um zu ermitteln, ob B. ascendens durch Zusatz von 3% Propylalkohol getötet wurde, fügte ich neben 3 ccm Propylalkohol den Lösungen 0,5 ccm Äthylalkohol hinzu. 96,5 ccm Nährlösung, + 3 ccm Propyl-, + 0,5 ccm Äthylalkohol.

a) Die Aussaat wuchs in 9—10 Tagen an.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	12	2,75	4,55	0,2	0,34
	16	5,35	8,75	0,4	0,65
	20	16,05	16,95	1,19	1,25
	26	12,75	13,55	**0,94**	**1,0**
	32	keine Säurezunahme mehr			

Sollmenge: 2,97 g Säure, Istmenge: 1,0 g (33,72% der Theorie).

b) B. ascendens entwickelte sich nach 8 Tagen.

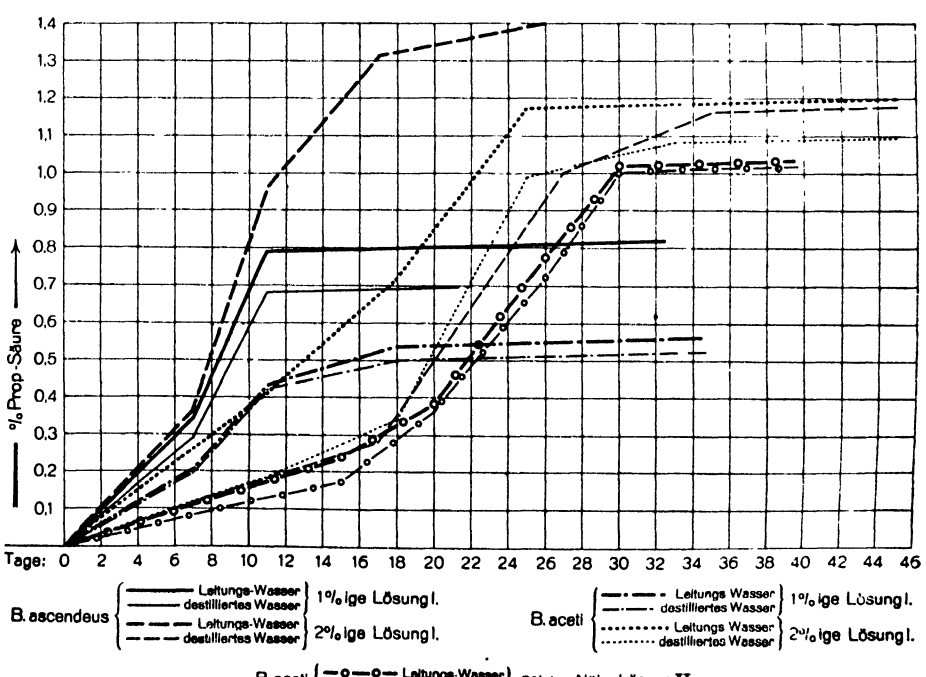
Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	12	6,65	6,95	0,49	0,51
	16	17,15	17,75	1,27	1,31
	20	13,45	14,35	**0,99**	**1,06**
	26	13,55	14,4	1,0	1,06

Istmenge: 1,06 g Säure (35,7%).

3 proz. Propylalkohol verhinderte hiernach wohl das Wachstum, tötete B. ascendens aber nicht, da Zusatz von 0,5 ccm Äthylalkohol Entwicklung gab. Nach anfänglich langsamer Säuerung schnellte die Azidität bis 1,25 bzw. 1,37% empor, um dann am 26. bzw. 20. Tage bis auf 1,0 bzw. 1,06 zu fallen (Zersetzung der gebildeten Essigsäure).

Zusammenfassung: Bei Verwendung von Leitungswasser wurde der 1- und 2 proz. n-Propylalkohol zu 80 bzw. 70% in Säure umgesetzt. Maximal entstanden nur 1,4% Säure. Mehr als 2% Propylalkohol verhinderte die Entwicklung, doch trat auf Zusatz von 0,5 ccm Äthylalkohol noch in 3 proz. Propylalkohol Wachstum ein, oxydiert wurden etwa 33 bis 35%.

Hermann (3) gelangte in 2% Propylalkohol-Hefewasserlösung zu 42 proz. Umsetzung nach 3¾ Mon. Nach Krehan (4), dessen B. aceti-genoideum Propylalkohol in Hefewasser nicht oxydierte, war das Verhältnis Zucker-Kohlenstoff-Stickstoff für die Oxydierbarkeit entscheidend. Auch Yamada (17) oxydierte zu Propionsäure.



Kurve 3. Säuerungsverlauf in 1 und 2 proz. n-Propylalkohollösung.

3. Normaler Propylalkohol mit B. aceti (Kurve 3).

1. Versuchsreihe: 99 ccm Nährlösung, + 1 ccm n-Propylalkohol.

a) Beginnendes Wachstum in 4 Tagen, gute Hautbildung, klare Lösung.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	7	2,35	2,65	0,17	0,19
	11	5,85	5,75	0,43	0,43
	18	6,95	6,65	**0,51**	**0,49**

Im weiteren Verlauf keine Säurezunahme. Istmenge: 0,51 g Säure (51,9% der Theorie).

b) Entwicklung in 4 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	7	3,05	2,75	0,23	0,2
	11	6,05	5,85	0,45	0,43
	18	6,95	7,25	**0,51**	**0,54**

Nach weiteren Wochen keine Steigerung der Säurebildung. Istmenge: 0,54 g Säure (54,1% der Theorie). B. aceti säuerte hier auch n-Propylalkohol langsamer und schwächer als B. ascendens.

2. Versuchsreihe: 2 ccm n-Propylalkohol.

a) Entwicklung in 8—9 Tagen, schwächere Hautbildung als oben in 1 a und 1 b.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	11	1,35	2,45	0,1	0,18
	18	3,95	4,55	0,29	0,34
	25	12,95	13,45	0,96	1,0
	33	14,75	14,65	**1,09**	**1,08**
	37	keine Säurezunahme			

Istmenge: 1,09 g Säure (55% der Theorie).

b) Wachstum in 6—7 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Saure	
	11	5,55	4,65	0,41	0,34
	18	9,75	9,45	0,72	0,7
	25	15,85	15,45	**1,17**	**1,14**
	33	keine Säurezunahme			

Istmenge: 1,17 g Säure (59,17% der Theorie).

In 2 proz. Lösung wurde also der n-Propylalkohol nur zu 55 bzw. 59% der berechneten Ausbeute umgesetzt.

3. Versuchsreihe: 3 ccm Propylalkohol. In Vorversuchen (Ansatz von 2 Kolben) wurde geprüft, ob 3 proz. Propylalkohol B. aceti ernähren konnte: 48,5 ccm Lösung sterilisiert, + 1½ ccm Propylalkohol. Die Impfung gab nach 4 Wochen kein Anwachsen, auch nicht nach nochmaliger Wiederholung. Ein Zusatz von 0,5 ccm Äthylalkohol rief hier zum Unterschiede von B. ascendens kein Wachstum hervor.

Bestimmung der gebildeten Säure.

In 2 1-l-Kolben wurden je 500 ccm Nährlösung gefüllt, sterilisiert und mit je 10 ccm n-Propylalkohol versetzt. Kolben 1 wurde beimpft mit B. ascendens, Kolben 2 mit B. aceti.

Im Kolben 1 Entwicklung binnen 5 Tagen, nach 9 Tagen hatte sich eine zarte Haut gebildet, Lösung war schwach getrübt, Bodensatz gering.

Nach 40 Tagen wurden 10 ccm der Versuchslösung titriert, es hatte sich 1,42% Säure gebildet. Diese wurde mit Wasserdampf übergetrieben und in Kalkmilch aufgefangen. Die Salzlösung wurde unter vermindertem Luftdruck eingedampft, mit Wasser aufgenommen und nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure die Säure abermals im Wasserdampfstrom destilliert, in der Vorlage mit Kalkmilch neutralisiert, die Lösung auf ein kleines Volumen konzentriert und zur Kristallisation stehen gelassen. Das abgenutschte Salz wurde im Trockenschrank bei 110° C getrocknet. Zwei Einwaagen von je 1 g wurden im Porzellantiegel vor dem Gebläse bis zur Gewichtskonstanz geglüht, der Rückstand (CaO) gewogen und der CaO-Gehalt in Prozenten auf die Einwaage berechnet.

Einwaage:	I.	1,0496 g	II.	1,1692 g
Rückstand:		0,3175 g		0,3544 g CaO
Gefunden:		30,25% CaO		30,12% CaO

Theoretisch enthält Ca-Propionat 30,12% CaO.

Die aus n-Propylalkohol durch B. ascendens gebildete Säure ist also Propionsäure.

Im Kolben 2 wuchs B. aceti in 9 Tagen an, die Hautbildung war erst in 12 Tagen vollzogen, klare Lösung, geringer Bodensatz.

Nach 40 Tagen wurden 10 ccm der Versuchslösung titriert, es hatte sich 1% Säure gebildet. Die Lösung wurde ebenso wie im Kolben 1 aufgearbeitet. Das Ca-Salz enthielt 30,2 bzw. 30,27% CaO.

Die aus n-Propylalkohol durch B. aceti gebildete Säure ist also ebenfalls Propionsäure.

4. Isopropylalkohol mit B. ascendens und B. aceti

Angewandt: Isopropylalkohol (chemisch rein)

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!> CH \cdot OH$$

Versuchsreihen: Der Alkohol wurde der Nährlösung in 0,5-, 1- und 2 proz. Konzentration zugesetzt und mit den beiden Bakterienarten beimpft.

Ergebnis: In allen Versuchslösungen zeigte sich nach Verlauf von 3 Wochen kein Wachstum, ein Zeichen, daß die Bakterien Isopropylalkohol als Kohlenstoffquelle nicht verarbeiten konnten.

Auch Seifert (11) und Henneberg (5) hatten in ihren Untersuchungen die Unangreifbarkeit des Isopropylalkohols durch Essigbakterien festgestellt. Nach neuerer Angabe (1931) von D. Müller (15) wurde er von B. Pasteurianum zu Azeton oxydiert.

5. Normaler Butylalkohol mit B. ascendens (Kurve 4).

Angewandt: n-Butylalkohol, $CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$. — 1 ccm Butylalkohol ergibt theoretisch 0,9558 g Buttersäure. 1 ccm n/10 KOH neutralisiert 0,0088 g Buttersäure.

1. Versuchsreihe: 99 ccm Nährlösung, + 1 ccm Butylalkohol, beimpft.

a) Die Aussaat entwickelte sich in 6—7 Tagen, das Wachstum schritt langsam fort, in 14 Tagen steigerte es sich zu einer guten Hautbildung, schwaches Klettern, klare Lösung, kein Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	14	1,35	1,15	0,12	0,1
	21	3,65	3,45	0,32	0,3
	28	5,85	5,55	**0,52**	**0,49**
	35	5,9	5,6	0,52	0,49

Nach weiteren 2 Wochen Anreicherung der Säure durch Wasserverdunstung.

Sollmenge: 0,9558 g Säure, Istmenge: 0,52 g (55,45% der Theorie).

b) B. ascendens wuchs in 6 Tagen an (wie oben).

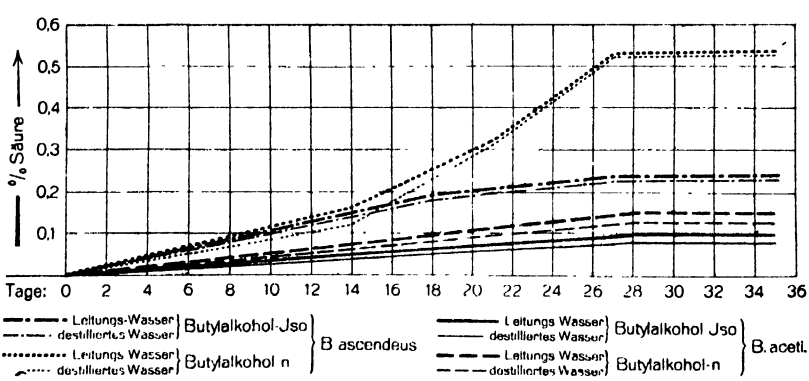
Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Saure	
	14	1,65	0,75	0,15	0,007
	21	3,55	3,05	0,31	0,27
	28	6,05	5,15	**0,53**	**0,45**
	35	6,12	5,2	0,54	0,46

Nach weiteren 2 Wochen keine Steigerung der Azidität. Istmenge: 0,53 g Säure (55,45% der Theorie).

Ergebnis: n-Butylalkohol diente in 1 proz. Konzentration B. ascendens als Kohlenstoffquelle und wurde langsam gesäuert. Die Säuremenge stieg auf 0,53% und nahm nicht wieder ab.

In seinen Untersuchungen stellte Krehan (4) den Verbrauch von Buttersäure durch B. aceti-genoideum in natürlicher Nährlösung fest.

2. Versuchsreihe: 2 ccm Butylalkohol. a) und b) Nach 14 Tagen zeigte sich kein Wachstum, das auch bei nochmaliger Beimpfung nur sehr schwach in Versuch b) erschien. Auf Zusatz von je 0,5 ccm Äthylalkohol begann jedoch Entwicklung, die Säuerung erreichte nach 35 Tagen eine Höhe, die dem Gehalt von nur 0,35% Buttersäure entsprach.



Kurve 4. Säuerungsverlauf in 1 proz. Butyl- und Isobutylalkohol-Mineralsalzlösung.

5a. n-Butylalkohol mit B. aceti (Kurve 4).

Versuchsreihen: a) 99 ccm Nährlösung + 1 ccm Butylalkohol. Erst nach mehrmaligem Beimpfen Anwachsen. Nach 10 Tagen zeigten sich kleine Bakterieninseln, die im Verlaufe von 3 Wochen zu einer sehr zarten Haut zusammenwuchsen, klare Lösung, kein Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	28	1,35	1,75	0,13	0,15
	35	keine Steigerung			

Sollmenge: 0,9558 g Säure. Istmenge: 0,154 g (16,12% der Theorie).

b) Entwicklung nach einmaligem Beimpfen erst nach 14 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Saure	
	28	1,65	1,25	0,14	0,11
	35	keine Erhöhung der Azidität			

Istmenge: 0,145 g Säure (15,17% der Theorie).

B. aceti oxydierte hier also n-Butylalkohol in höchstens 1 proz. Konzentration nur sehr schwach. Der Alkohol wirkte stark wachstumsverzögernd.

Bestimmung der aus Butylalkohol gebildeten Säure.

Da B. aceti n-Butylalkohol nur sehr schwach säuerte, beimpfte ich 500 ccm Nährlösung (Leitungswasser), der nach dem Sterilisieren 5 ccm n-Butylalkohol zugesetzt worden war, mit B. ascendens. Schwache Entwicklung in 6 Tagen, die Haut bildete sich in etwa 2 Wochen. Nach 5 Wochen betrug die Azidität der Lösung 0,49%. Der Versuch wurde nach dem oben beschriebenen Verfahren aufgearbeitet. Das getrocknete Ca-Salz ergab 26,27% CaO. Der theoretische Prozentsatz von CaO in buttersaurem Ca beträgt 26,15%. Die aus Butylalkohol gebildete Säure war also als Buttersäure anzusprechen.

Zusammenfassung der Ergebnisse: In der angewandten Mineralsalzlösung konnte n-Butylalkohol von B. ascendens in höchstens 2 proz., von B. aceti in 1 proz. Konzentration zu Buttersäure oxydiert werden. B. ascendens bildete 0,5%, B. aceti 0,15% Säure.

Seifert (11) fand, daß B. Pasteurianum und B. Kützingianum in Hefewasser n-Butylalkohol oxydierten (Ausbeute wurde nicht ermittelt). Henneberg (5) hatte in 2 proz. Konzentration bei 8 Essigbakterienarten keine Säuerung und Entwicklung in natürlicher Nährlösung feststellen können.

6. Sekundärer Butylalkohol mit B. ascendens und B. aceti.

Angewandt: Sek. Butylalkohol, $CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot OH \cdot CH_3$, chem. rein. Dieser Alkohol wurde der Nährlösung zu 0,5, 1- und 2% zugesetzt und 1. mit B. ascendens, 2. mit B. aceti geimpft. Nach Ablauf von 3 Wochen war in keinem der Kolben, die je 50 ccm Gesamtlösung enthielten, Entwicklung der Einsaat festzustellen, auch mehrmaliges Nachimpfen führte zu negativen Ergebnissen. Nur B. ascendens vermehrte sich schließlich sehr schwach in den 0,5proz. Lösungen, die Entwicklung kam sehr bald zum Stillstand und die Flüssigkeit klärte sich. Durch Titration konnte keine Säuerung ermittelt werden.

7. Tertiärer Butylalkohol mit B. ascendens und B. aceti.

Angewandt: Tert. Butylalkohol, $(CH_3)_3 \cdot C \cdot OH$, chem. rein, in 0,5-, 1- und 2proz. Konzentration, beimpft mit den beiden Bakterienarten. Die 6 Versuchsreihen, bestehend aus je 2 Kolben mit je 50 ccm Nährlösung, standen nach Beimpfung 4 Wochen im Brutschrank (30—31° C). Die Lösungen blieben klar, auch nochmalige Beimpfung ließ kein Wachstum aufkommen. Säuerung war, wie zu erwarten, nicht entstanden, die anfängliche Azidität hatte sich nicht geändert.

Ergebnis: Tert. Butylalkohol war keine Kohlenstoffnahrung für die beiden untersuchten Bakterien, er wurde von ihnen auch nicht oxydiert. Literaturangaben über die Wirkung von Essigbakterien auf sekundären und tertiären Butylalkohol fehlen bislang. Diese schwer oxydierbaren Alkohole geben auch bei rein chemischer Oxydation keine Säure.

8. Isobutylalkohol mit B. ascendens (Kurve 4).

Angewandt: Isobutylalkohol, $\frac{CH_3}{CH_3} > CH \cdot CH_2 \cdot OH$, chem. rein. 1 ccm Isobutylalkohol ergibt theoretisch 0,951 g Isobuttersäure, 1 ccm n/10 KOH neutralisiert 0,0088 g Isobuttersäure.

1. Versuchsreihe: 99 ccm Nährlösung + 1 ccm Isobutylalkohol.

a) Schwaches Wachstum nach 10—11 Tagen, schwache Hautbildung, geringes Klettern, kein Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	17	2,15	1,35	0,19	0,12
	27	2,55	1,85	0,22	0,16
	37	2,65	2,75	**0,23**	**0,24**
	42	2,7	2,79	0,24	0,245

Sollmenge: 0,951 g Säure. Istmenge: 0,24 g (25,32% der Theorie).

b) Geringe Vermehrung nach 10 Tagen, die langsam zu einer sehr zarten Hautbildung gedieh, Klettern bis zu 2 cm Höhe, kein Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	17	2,05	2,0	0,18	0,17
	27	2,55	2,56	0,22	0,22
	37	2,65	2,65	**0,23**	**0,23**

Istmenge: 0,23 g Säure (24,18% der Theorie).

Der größere Nährwert von Leitungswasser, der sich in allen Versuchen, besonders in niedrigen Konzentrationen, zeigte, trat bei Verwendung von Isobutylalkohol als Kohlenstoffquelle nicht mehr hervor.

2. Versuchsreihe: In 2 proz. Isobutylalkohol entwickelte sich B. ascendens in 4 Wochen nicht mehr, wohl aber auf Zusatz von Äthylalkohol.

8. Isobutylalkohol mit B. aceti (Kurve 4).

1. Versuchsreihe: 1 ccm Isobutylalkohol.

a) Aussaat wuchs nach 14 Tagen schwach an, auf der Oberfläche der Lösung bildeten sich nur kleine Bakterieninseln, keine Haut.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	28	0,55	0,9	0,05	0,08
	35	0,6	0,97	0,05	0,085

Nach weiteren 2 Wochen keine Erhöhung der Säuremenge. Istmenge: 0,08 g Säure (8,4% der Theorie).

b) Schwaches Anwachsen, Bildung von Bakterieninseln, klare Lösung, kein Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	28	0,95	1,15	0,085	0,1
	35	keine Steigerung			

Istmenge: 0,1 g Säure (10,6% der Theorie).

2. Versuchsreihe: 2 ccm Isobutylalkohol.

a) und b) kein Wachstum innerhalb von 3 Wochen, das auch auf Zusatz von 0,5 ccm Äthylalkohol trotz mehrmaliger Beimpfung ausblieb.

Bestimmung der aus Isobutylalkohol entstandenen Säure.

Angewandt: 500 ccm Nährlösung + 5 ccm Isobutylalkohol, B. ascendens. Schwache Entwicklung in 11 Tagen, Bildung einer sehr zarten Haut, klare Lösung, kein Bodensatz. Die Titration ergab nach 7 Wochen 0,25% Säure. Das getrocknete Ca-Salz enthielt im Mittel 26,4% CaO (theoret. verlangt 26,15%).

Aus Isobutylalkohol wurde also durch B. ascendens Isobuttersäure gebildet.

Zusammenfassung: Isobutylalkohol brachte die beiden Bakterienarten in der angewandten Nährlösung sehr schwach zur Entwicklung und konnte nur in 1 proz. Konzentration ertragen werden. Neben Zusatz von 0,5 ccm Äthylalkohol hinderte 2 proz. Isobutylalkohol das Wachstum von B. ascendens nicht. Das Säuremaximum betrug bei B. ascendens 0,25%, bei B. aceti 0,1% Isobuttersäure.

Nach Brown (12) und Henneberg (5) säuerten die von ihnen verwendeten Essigbakterien Isobutylalkohol (Hefewasser) nicht. Seifert (11) will in Würze Säuerung in Höhe von 0,4% festgestellt haben.

9. Hexylalkohol mit B. ascendens und B. aceti.

Angewandt: n-Hexylalkohol, $C_5H_{11} \cdot CH_2 \cdot OH$, chemisch rein. In den Versuchsreihen, die mit 0,25- und 0,5 proz. Hexylalkohol (a und b) angesetzt waren, konnten die beiden Bakterienarten im Verlauf von 3 Wochen nicht zur Entwicklung kommen. Der Alkohol ermöglichte also weder Wachstum noch Säuerung.

10. Benzylalkohol und β-Phenyläthylalkohol mit B. ascendens und B. aceti.

Angewandt: Benzylalkohol, $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot OH$, Siedepunkt 205° C, β-Phenyläthylalkohol $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$, Siedepunkt 212° C. Diese beiden Alkohole wurden in 0,1- und 0,25 proz. Konzentration der Mineralsalzlösung in Kolben, die je 50 ccm Nährlösung enthielten, nach dem Sterilisieren und Beimpfen zugegeben. Auch nach 3 Wochen war noch keine Entwicklung der Einsaat festzustellen. Wiederholung der Beimpfung blieb erfolglos.

Benzyl- und β-Phenyläthylalkohol konnten die Bakterien also nicht ernähren.

Vergleichende Versuche mit Hefewasserlösungen ergaben gute Entwicklung der Einsaat, aber keine Säuerung. Untersuchungen über Einwirkung von aromatischen Alkoholen auf Essigbakterien sind meines Wissens bisher nicht ausgeführt worden.

Verdunstungsversuche.

Der Prüfung unterzog ich Äthyl- (95 Vol.-proz.), n-Propyl- und n-Butylalkohol in den gleichen Konzentrationen und unter denselben Bedingungen wie in den Säuerungsversuchen.

Jeder 300 ccm fassende Erlenmeyer-Kolben enthielt insgesamt 100 ccm Flüssigkeit und war mit Wattestopfen wie sonst verschlossen. Die Kolben wurden im Wärmeschrank bei 30—31° C aufgestellt. Von Woche zu Woche entnahm ich den einzelnen Kolben je 10 ccm Lösung und ermittelte den prozentualen Alkoholverlust durch pyknometrische Bestimmung des spezifischen Gewichtes bei 15,5° C.

Alkoholverlust Äthylalkohol	1proz. Lösung %	2proz. Lösung %	4proz. Lösung %	8proz. Lösung %	12proz. Lösung %
in 7 Tagen	4,5	4,7	5	5,5	6,4
in 14 „	7,6	8,9	7,4	9,4	10,8
in 21 „	12,4	13,5	10,5	14,6	17,0
in 28 „	14,8	17,5	14,7	17,6	19,0
in 35 „	16	21,8	19,0	22,0	23,5

n-Propylalkohol Verlust in	1proz. Lösung %	2proz. Lösung %	n-Butylalkohol Verlust in	1proz. Lösung %	2proz. Lösung %
in 7 Tagen . .	5	4,2	in 7 Tagen . .	3,7	4,8
in 14 „ . .	8,4	7,7	in 14 „ . .	7,5	8,2
in 21 „ . .	13,4	13,0	in 21 „ . .	14,3	12,0

Die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus Parallelversuchen und sollen nur einen ungefähren Überblick über die Höhe der Verdunstung geben. Auf diesen Alkoholverlust durch Verdunsten in Gärversuchen ist schon 1902 unter Beibringung von Zahlen zuerst von Wehmer (13) hingewiesen worden. Heute wird er bekanntlich in der gärenden Maische durch Bedecken der Bottiche nach Möglichkeit zu verringern gesucht.

Blindversuche, um die Verdunstung oder die Konzentration von Essigsäure in wässeriger Lösung festzustellen.

Versuchsanordnung: In Erlenmeyer-Kolben, etwa 275 und 300 ccm fassend, wurden je 100 ccm Wasser mit einem Gehalt von etwa 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 4 und 5% Essigsäure eingefüllt. Nach der Bestimmung der Anfangsazidität (2 ccm Lösung titriert mit n/10 NaOH, Indikator Phenolphthalein) wurden die Kolben im Brutschrank bei 30—31° C aufgestellt und nach Verlauf von je einer Woche 2 ccm der Lösung entnommen und titriert. Versuchsdauer 5 Wochen.

Versuchs-Kolben	Mittelwerte		Azidität nach 1 Wochen	2 Wochen	3 Wochen	4 Wochen	5 Wochen
1	Anfangsazidität in %	0,53	0,54	0,55	0,58	0,6	0,61
	Verbrauch an n/10 NaOH in ccm	1,78	1,8	1,85	1,94	1,99	2,0
2	Anfangsazidität in %	1,03	1,07	1,11	1,14	1,19	1,21
	Verbrauch an n/10 NaOH in ccm	3,4	3,5	3,7	3,8	3,98	4,0
3	Anfangsazidität in %	1,54	1,58	1,64	1,71	1,74	1,78
	Verbrauch an n/10 NaOH in ccm	5,16	5,3	5,47	5,71	5,8	5,94
4	Anfangsazidität in %	2,07	2,14	2,22	2,27	2,28	2,47
	Verbrauch an n/10 NaOH in ccm	6,9	7,14	7,42	7,55	7,93	8,25
5	Anfangsazidität in %	2,58	2,64	2,74	2,83	2,89	2,97
	Verbrauch an n/10 NaOH in ccm	8,61	8,81	9,13	9,44	9,65	9,9
6	Anfangsazidität in %	4,06	4,28	4,51	4,75	4,92	5,27
	Verbrauch an n/10 NaOH in ccm	13,54	14,27	15,03	15,82	16,73	17,56
7	Anfangsazidität in %	5,1	5,29	5,66	5,84	6,1	6,36
	Verbrauch an n/10 NaOH in ccm	17,05	17,63	18,88	19,48	20,36	21,22

Ergebnis: Essigsäure verdunstet bei 30—31° C in 0,5—5proz. Konzentration aus wässeriger Lösung nicht merklich, wird also durch Verdunsten von Wasser angereichert und zwar in der Reihenfolge der obigen Anordnung um 15,1, 17,4, 15,6, 19,3, 15,1, 29,6 und 24,7% in 5 Wochen, was einem Wasserverlust von 13,1, 14,9, 13,5, 16,2, 13,1, 23 und 19,8 ccm entspricht. Außer der Temperatur, der Festigkeit des Wattestopfens sind die Maße der Kolben für den Ausfall der Versuchswerte von ausschlaggebender Bedeutung. Hier waren die Kolben 1—5 von derselben Größe (Halsweite 2 cm, Höhe 15 cm, Inhalt 300 ccm, während Kolben 6 und 7 2,5 bzw. 2,35 cm Halsweite, 13,5 cm Höhe und 275 ccm Rauminhalt hatten.

Säuerungsverlauf unter Berücksichtigung der Ausbeute.

Die Versuche, die ich zur Ermittlung der Verdunstung von Alkoholen und Wasser bzw. der Anreicherung von Essigsäure angesetzt hatte, geben ein übersichtliches Bild zur Bewertung dieser einzelnen Faktoren.

Durch die Bakterientätigkeit, die sich in den zuckerfreien Nährlösungen nicht nur auf den Verbrauch von Alkohol als Nährstoff und Bildung von Säure beschränkte, sondern sich speziell beim Äthylalkohol auch auf die Verarbeitung der Essigsäure ausdehnte, wird die Ausbeute noch weiter erniedrigt.

Würde die Aufzehrung der Essigsäure erst nach der Oxydation des Gesamtalkohols eintreten, so verminderte sich das Säuremaximum nur um

die Größe der Verdunstung von Alkohol und würde je nach dessen Konzentration 70—90% betragen (Hoyer 8). Wie aber durch die Jodoform-Reaktion bestätigt wurde, begann die Säureabnahme schon bei Gegenwart von unverbrauchtem Alkohol (Lafar 1), die Entstehung von Säure konnte also durch Titration nur zum Teil erfaßt werden.

Der Verbrauch von Essigsäure trat schon gleich nach ihrer Bildung ein, wie die Versuche mit Essigsäure als alleiniger C-Quelle bestätigen werden, und zwar abhängig von der Alkoholkonzentration.

So bildete z. B. in 1 proz. Äthylalkohol B. ascendens 0,48 g Säure, entsprechend 49% der berechneten Menge. Bis zur Erreichung des Maximums waren etwa 7% Alkohol verdunstet, die restlichen 44% entzogen sich der Bestimmung als Säure und waren also als Nährstoff zum Aufbau der Bakteriensubstanz und durch Zersetzung der entstandenen Säure bei Gegenwart von Alkohol aufgebraucht worden.

In den höher konzentrierten Äthylalkohollösungen (B. ascendens, Versuche a) sind die entsprechenden Zahlen folgende:

	Verlust		
	1. durch Verdunsten %	a) als Baustoff, 2. b) durch Verbrauch der Säure %	Erhaltene Säure %
in 2proz. Alkohol .	12,8	46,8	40,4
in 4proz. „ .	10,0	33,1	56,9
in 8proz. „ .	32	16,2	51,8
in 12proz. „ .	43	12	44,9 [1])

[1]) Hier war das Maximum noch nicht erreicht worden.

Für die 8—12 proz. Lösungen setzte ich den Verdunstungsverlust auf 4% je Woche ein.

Unter Berücksichtigung des Verdunstens von Wasser, das in essigsaurer Lösung mit durchschnittlich 2,7 ccm je Woche festgestellt wurde, sind die Ausbeuten besonders in den höher konzentrierten Lösungen noch niedriger anzusetzen.

In den 1- und 2 proz. n-Propyl- und Butylalkohollösungen war die spezifische Wirkung dieser Alkohole auf die beiden Essigbakterien für die Ausbeute entscheidend. Während B. ascendens in 1 proz. Propylalkohol noch eine Umsetzung von 80% erzielte, den Alkohol also, abgesehen von dem Verdunstungsverlust, nahezu quantitativ oxydierte, nahm die Ausbeute in den anderen Alkohollösungen beträchtlich ab.

Da die Verdunstung im Verlaufe von 3 Wochen höchstens 14% betrug, war neben dem Säuremaximum in den 1 proz. n-Butyl- und Isobutyl-Alkohollösungen, in denen der Alkohol nur zu 8—25% oxydiert wurde, also noch stets unverbrauchter Alkohol vorhanden, der aber wegen seiner wachstumshemmenden Wirkung bzw. derjenigen der freien Säure nicht verarbeitet wurde.

B. Säuerungsversuche mit mehrwertigen Alkoholen und deren Einfluß auf das Wachstum der Bakterien.

Glykol, Glyzerin und Erythrit (C. A. F. Kahlbaum, Berlin) wurden auf ihre Eignung als alleinige Kohlenstoffquelle untersucht.

1. Glykol mit B. ascendens. Angewandt: Glykol, $\begin{matrix} CH_2 \cdot OH \\ | \\ CH_2 \cdot OH \end{matrix}$, spez. Gew. 1,109, Siedepunkt 197° C; 1 ccm Glykol ergibt theor. 1,3589 g Glykolsäure, 1 ccm n/10 KOH neutralisiert 0,0076 g Glykolsäure.

1. Versuchsreihe: 1 ccm Glykol.

a) Nach 10 Tagen beginnendes Wachstum, Hautbildung in 15 Tagen, schwach trübe Lösung, geringer Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	15	2,45	2,85	0,18	0,22
	24	4,15	4,35	0,32	0,33
	30	5,25	5,45	0,4	0,41
	36	6,09	6,25	**0,46**	**0,48**
	42	keine Erhöhung der Azidität			

Sollmenge: 1,3589 g Säure. Istmenge: 0,48 g (35% der Theorie).

b) Entwicklung in 9—10 Tagen, später gute Hautbildung, trübe Lösung, geringer Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	15	3,05	2,95	0,23	0,22
	24	4,55	4,65	0,35	0,35
	30	5,75	5,9	0,44	0,45
	36	6,45	6,75	**0,49**	**0,51**

Istmenge: 0,51 g Säure (37,75% der Theorie).

In 1 proz. Lösung wurde Glykol von B. ascendens sehr langsam und schwach gesäuert.

2. Versuchsreihe: 2 ccm Glykol. In 2 proz. Lösungen (Versuch a und b) kam nach Ablauf von 3 Wochen kein Wachstum auf. Nochmaliges Beimpfen führte nach gleichem Zeitraum zu sehr schwacher Vermehrung der Einsaat. Da nach 4 Wochen keine Hautbildung entstanden war, wurde der Verlauf der Säuerung nicht weiter verfolgt.

1a. Glykol mit B. aceti.

1. Versuchsreihe: 1 ccm Glykol.

a) Entwicklung der Aussaat nach 13 Tagen, schwache Hautbildung, klare Lösung, kein Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	17	1,15	1,27	0,09	0,1
	24	2,35	2,55	0,18	0,19
	30	3,65	3,9	0,28	0,3
	36	4,15	4,4	0,32	0,33
	42	4,55	4,75	**0,35**	**0,36**

Istmenge: 0,36 g Säure (26,4% der Theorie).

b) Wachstum in 10 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Säure	
	15	2,27	2,35	0,17	0,18
	24	3,85	3,95	0,29	0,3
	30	4,35	4,65	0,33	0,35
	36	4,9	5,05	0,37	0,38

Istmenge: 0,38 g Säure (28,3% der Theorie).

Glykol ernährte B. aceti sehr schwach. Die entstandene Säure verhinderte gutes Wachstum der Bakterien und damit Steigerung der Azidität, Abnahme fand nicht statt.

In 2 proz. Konzentration kam die Einsaat nicht mehr zur Entwicklung, ein Zeichen, daß Glykol hier giftig wirkte.

Bestimmung der gebildeten Säure.

500 ccm Nährlösung (Leitungswasser) wurden mit 5 ccm Glykol versetzt, sterilisiert und mit B. ascendens beimpft. Nach 6 Wochen ergab die Titration von 10 ccm Lösung 0,5% Säure.

Die Lösung wurde auf dem Wasserbade auf etwa 50 ccm eingedampft und filtriert. Da Glykolsäure ätherlöslich, Glykol aber nicht mit Äther mischbar ist, wurde die Lösung im Extraktionsapparat für Flüssigkeiten (von der Heyde) mit Äther 5 Std. extrahiert.

Die saure Ätherlösung wurde unter vermindertem Luftdruck verdampft, der Rückstand von weißen Kristallen mit wenig Wasser aufgenommen und nochmals mit Äther extrahiert. Die aus der ätherischen Lösung durch Verflüchtigen des Lösungsmittels gewonnenen trockenen Kristalle schmolzen bei 77,5° C. Der Schmelzpunkt der Glykolsäure $CH_2 \cdot OH \cdot COOH$ wird in der Literatur mit 77—78° C angegeben.

Unter den vorliegenden Bedingungen war die aus Glykol gebildete Säure genügend als Glykolsäure identifiziert.

Ergebnis: 1 proz. Glykol brachte beide Bakterienarten nur schwach zur Entwicklung, wurde auch von ihnen in geringem Maße (0,5 bzw. 0,38%) zu Glykolsäure oxydiert. Höhere Konzentration des Alkohols verhinderte das Wachstum der Bakterien.

Seifert (11) bestimmte ebenfalls die aus Glykol durch Essigbakterien gebildete Säure als Glykolsäure.

2. Glyzerin und Erythrit mit B. ascendens und B. aceti.

Glyzerin und Erythrit wurden in 2 proz. Konzentration geprüft. In den Erythritlösungen kamen die beiden Bakterien auch nach 3 Wochen noch nicht zur Entwicklung, in den Glyzerinlösungen vermehrte sich B. aceti unerwarteterweise nicht. Nur B. ascendens wuchs in Glyzerin (2 proz.) langsam an. Nach 3 Wochen hatte sich eine zarte, unzusammenhängende Haut gebildet. Die nach weiteren 3 Wochen vorgenommene Titration ergab keine Säurebildung, Fehlingsche Lösung wurde nicht reduziert. Die Bestimmung des Glyzerins zeitigte vor und nach dem Versuche fast gleiche Werte.

Durch andere, von mir gezüchtete Essigbakterien wurde Glyzerin in Hefewasser zu einer Fehlingschen Lösung schon in der Kälte stark reduzierenden Substanz oxydiert (Virtanen 6), in Versuchen mit $CaCO_3$-Zusatz stellte ich neben dieser auch einen Verbrauch von Kreide, also Entstehung einer Säure fest, die ich nicht näher bestimmte.

Nach Henneberg (5) wurde Glyzerin auch glatt zu Kohlen-

dioxyd und Wasser veratmet, Hermann (3) ermittelte als Oxydationsprodukt ebenfalls Dioxyazeton und aus Erythrit d-Erythrylose.

III. Zersetzung organischer Säuren durch die Bakterien.

A. Brauchbarkeit verschiedener organischer Säuren als Nährstoff.

Versuchsreihen: In 0,1 proz. Konzentration wurden in Kolben zu je 50 ccm Nährlösung, ebenfalls in Parallelversuchen, Fumar-, Malon-, Zitronen-, Wein-, Bernstein-, Äpfel-, Glykol-, Milch-, Essig-, Propion- und Buttersäure als alleinige Kohlenstoffquellen auf ihre Oxydierbarkeit geprüft.

Nach 5—7 Tagen hatte sich B. aceti nur in den essigsauren Lösungen, B. ascendens in den essig-, milch- und bernsteinsauren entwickelt. Trotz nochmaliger Beimpfung blieb das Wachstum in den Kolben der übrigen Versuchsflüssigkeiten innerhalb von 4 Wochen aus. Auch Propion-, Butter- und Glykolsäure ergaben selbst in dieser geringen Konzentration keine Entwicklung.

Krehan (4) fand in synthetischen Nährlösungen außer Essig-, Milch- und Bernsteinsäure auch Äpfel- und Zitronensäure als Nährstoffe geeignet und bemerkte auch die Fähigkeit seines B. aceti-genoideum, Butter- und Valeriansäure in natürlicher Nährflüssigkeit abzubauen.

B. Zersetzung der als Baustoff brauchbaren organischen Säuren durch die Bakterien.

1. Essigsäure durch B. ascendens (Kurve 5).

Angewandt: Essigsäure, 80 prozentig.

Versuchsreihen: 98 ccm Nährlösung (dest. Wasser), + 2 ccm Essigsäure (1,72 g). Beginnendes Wachstum nach 7 Tagen. Die Vegetation vermehrte sich sehr stark und kletterte nach Verlauf von 14 Tagen etwa 10 cm hoch, leicht getrübte Lösung, starker Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	0	28,7	28,65	1,72	1,72
	12	18,3	18,4	1,1	1,1
	21	8,7	8,4	0,52	0,5
	35	5,8	5,6	0,35	0,34

B. ascendens verbrauchte 1,72 g Essigsäure in 35 Tagen bis auf 0,34%. Das Wachstum war in diesen Versuchen bedeutend besser als in 2—4 proz. Äthylalkohollösungen.

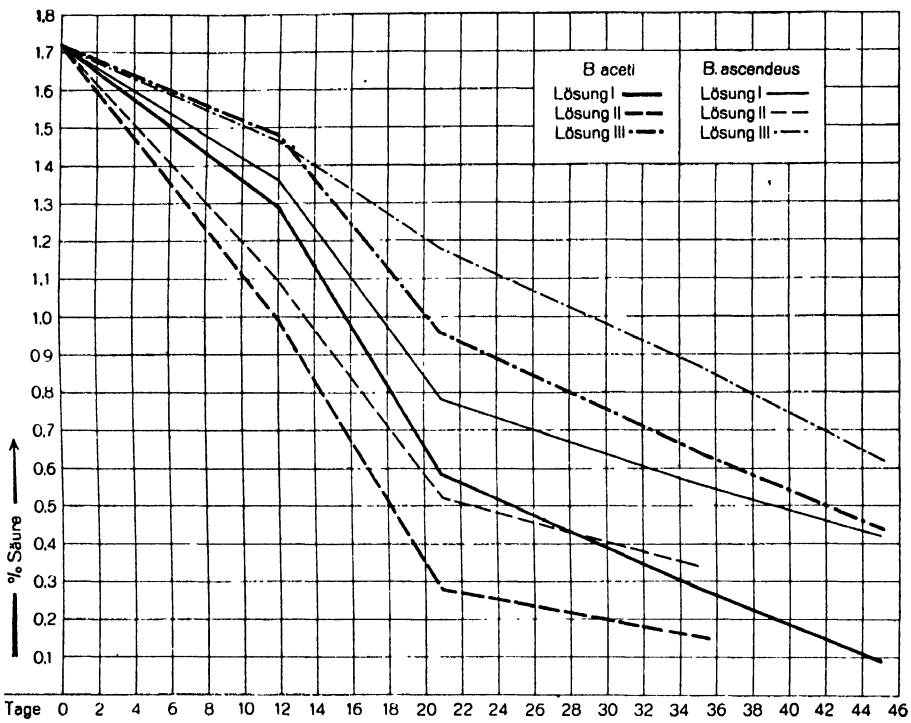
1. Essigsäure durch B. aceti (Kurve 5).

Versuchsreihen wie für B. ascendens. In 6—7 Tagen gutes Anwachsen. Die Entwicklung schritt sehr gut fort, Hautbildung in 10—12 Tagen, klare Lösung, starker Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	0	28,65	28,65	1,72	1,72
	12	15,6	16,5	0,94	0,99
	21	4,1	4,7	0,25	0,28
	35	2,3	2,5	0,14	0,15

Wie auch dieser Versuch zeigte, bot Essigsäure in 1,72 proz. Konzentration B. aceti eine sehr gute Entwicklungsmöglichkeit und wurde in 35 Tagen bis auf 0,15% aufgebraucht, also schneller verarbeitet als durch B. ascendens.

Von früheren Untersuchern wurde stets die große Empfindlichkeit der Essigbakterien gegen Essigsäure betont und geprüft, in welcher Konzentration diese noch ertragen werden konnte (Perold 10, Hoyer 8, Henneberg 5 u. a.). Die Fähigkeit einiger Essigbakterien, die gebildete Essigsäure wieder zu verbrauchen, ist aber schon von Pasteur (14) erkannt worden.



Kurve 5. Verlauf der Zersetzung in 1,72 proz. Essigsäure-Mineralsalzlösung.

2. Bernsteinsäure durch B. ascendens.

Da Bernsteinsäure in 0,1 proz. Konzentration gute Entwicklung gab, setzte ich stärker konzentrierte Versuche an.

1. Versuchsreihe: In n/10 Bernsteinsäure, 0,59% (50 ccm Nährlösung, dest. Wasser) entstand in 9 Tagen gute Entwicklung, nach 15 Tagen eine zarte Haut, schwach trübe Lösung, kein Bodensatz. Nach 35 Tagen ging die Anfangsazidität von 19 ccm n/10 KOH auf je 10 ccm Flüssigkeit (einschl. der Azidität der Nährlösung) auf 1 ccm n/10 KOH zurück.

2. Versuchsreihe: In n/20 Bernsteinsäure (0,295%) trat nach 8 Tagen beginnendes Wachstum ein, gute Weiterentwicklung, zarte Hautbildung, schwach trübe Lösung, kein Bodensatz.

Innerhalb von 35 Tagen war die Bernsteinsäure von den Bakterien verbraucht worden.

3. Milchsäure durch B. ascendens.

Versuchsreihen: In n/10 und n/20 Milchsäure (0,9 bzw. 0,45%) war das Wachstum besser als in den bernsteinsauren Lösungen. In der n/20 Lösung begann das Anwachsen in 6 Tagen, in der n/10 in 8 Tagen.

Auch hier war in allen Versuchen die angewandte Menge der Säure nach 35 Tagen verarbeitet worden.

Zusammenfassung der Ergebnisse: In 1,72 proz. Essigsäure gediehen B. ascendens und B. aceti sehr lebhaft. Die gute Nährfähigkeit der Säure zeigte sich besonders in der starken Vermehrung der Einsaat, die augenscheinlich bedeutend stärker war als in den 1—4 proz. Äthylalkohollösungen. Auf die von mir untersuchten Bakterien wirkte Essigsäure also ausschließlich wachstumsfördernd ein und wurde in 35 Tagen von ihnen nahezu aufgezehrt. Auch Milchsäure und Bernsteinsäure wurden von B. ascendens als Nährstoff gut aufgenommen, während beide Bakterien u. a. Butter-, Proprion- und Glykolsäure nicht zu zersetzen vermochten. Es ist hiernach verständlich, daß die aus Butyl-, Propylalkohol wie aus Glykol gebildeten Säuren nicht angegriffen wurden.

IV. Wirkung doppelt und vierfach verdünnter Nährlösungen.

A. Auf die Säuerung einwertiger Alkohole.

Hier wurde die Grundlösung auf das doppelte (Nährlösung II) und vierfache (Nährlösung III) verdünnt. Geprüft wurde in II und III (a und b) der Säuerungsverlauf bei Zugabe von 4 und 8% Äthylalkohol (Kurve 1), 2% Propylalkohol (Kurve 3), 1% Butyl- und Isobutylalkohol.

1. Äthylalkohol mit B. aceti.

1. Versuchsreihe: 96 ccm Nährlösung II sterilisiert, + 4 ccm Äthylalkohol, beimpft.

a) Nach 7 Tagen beginnendes Wachstum, gute Entwicklung.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	14	3,7	4,2	0,22	0,25
	21	16,9	18,4	1,01	1,1
	28	26,6	27,8	1,6	1,67
	35	33,7	35,0	**2,02**	**2,1**
	42	18,9	20,4	1,13	1,22
	47	8,2	9,1	0,5	0,55

Nach 2 Monaten war keine Säure mehr vorhanden.
Istmenge: 2,1 g Essigsäure (53,3% der Theorie).

b) Gute Entwicklung nach 6—7 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	14	4,0	4,4	0,24	0,26
	21	17,8	17,6	1,07	1,06
	28	**32,6**	35,4	**1,96**	**2,12**
	35	17,8	18,1	1,07	1,09
	42	4,4	6,2	0,26	0,37

In 50 Tagen war keine Säure mehr vorhanden. Istmenge: 2,12 g Essigsäure (53,94% der Theorie). In Nährlösung II entwickelte sich die Aussaat 1—2 Tage später als in Nährlösung I, Säuerung fast gleich stark, doch war der Alkohol bzw. die gebildete Säure erst 8—10 Tage später verbraucht.

2. Versuchsreihe: 8 ccm Äthylalkohol in Nährlösung II. a) und b) Nur schwaches Anwachsen nach 14 Tagen, weitere Entwicklung sehr langsam. Der Verlauf der Säuerung wurde deshalb nicht untersucht.

3. Versuchsreihe: 4 ccm Äthylalkohol in Nährlösung III. a) Geringe Vermehrung in 11 Tagen. Die langsam fortschreitende Entwicklung war bedeutend schwächer als in Versuch 1 a).

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	21	4,65	5,05	0,28	0,3
	28	10,45	11,05	0,63	0,66
	35	19,25	19,65	1,16	1,18
	42	27,05	29,25	**1,62**	**1,76**

Bei Abbruch des Versuches: Säuremaximum 1,76% (41,2% der Theorie).

b) Schwaches Wachstum in 10 Tagen.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	21	4,85	5,55	0,29	0,33
	28	11,65	12,35	0,7	0,74
	35	20,05	20,95	1,2	1,26
	42	29,35	29,55	**1,76**	**1,77**

Bei Abbruch des Versuches: Säuremaximum 1,77% (44,7% der Theorie).

4. Versuchsreihe: 8 ccm Äthylalkohol in Nährlösung III. In 8 proz. Äthylalkohol fand kein Anwachsen der Bakteriensaat statt.

Ergebnis der Versuchsreihen 1—4: 4% Äthylalkohol förderte in Nährlösung II, die 0,25% Asparagin, 0,125% prim. Kaliumphosphat und 0,063% Magnesiumsulfat enthielt, die Vermehrung der Bakterien fast ebensogut wie in Nährlösung I, in der die Entwicklung nur 1—2 Tage früher einsetzte und der Alkohol 8—10 Tage eher verbraucht wurde. In Nährlösung III konnte selbst nach 42 Tagen das Säuremaximum nicht erreicht werden, im Vergleich zu Lösung I in 22 Tagen, zu Lösung II in 36 Tagen.

Die nachteilige Wirkung des 8proz. Alkohols ließ in Nährlösung II und III nur ein sehr geringes bzw. kein Wachstum der Bakterien mehr aufkommen.

2. n-Propylalkohol mit B. aceti (Kurve 3).

1. Versuchsreihe: 2 ccm Propylalkohol in Nährlösung II.

a) In 12 Tagen langsames Wachstum, gute Weiterentwicklung, klare Lösung, geringer Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Propionsäure	
	15	1,75	1,85	0,13	0,14
	20	3,45	3,65	0,26	0,27
	26	9,4	9,9	0,7	0,73
	30	13,8	14,4	**1,02**	**1,07**
	36	14,2	15,0	1,05	1,11

Nach 30 Tagen war die Höchstmenge erreicht. Istmenge: 1,1 g Propionsäure (55,98% der Theorie).

b) Langsames Wachstum in 12 Tagen, gute Weiterentwicklung.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Propionsäure	
	15	2,35	2,55	0,17	0,19
	20	5,2	4,9	0,39	0,36
	26	10,5	10,0	0,78	0,74
	30	15,8	15,7	**1,18**	**1,16**
	36	keine Steigerung der Azidität			

Istmenge: 1,18 g Propionsäure (59,5% der Theorie).

2. Versuchsreihe: 2 ccm Propylalkohol in Nährlösung III. B. aceti entwickelte sich nach 21 Tagen sehr schwach. Das Wachstum steigerte sich kaum. Der Säuerungsverlauf wurde daher nicht verfolgt.

Ergebnis der Versuchsreihen 1 und 2: In Nährlösung II verzögerte sich die Entwicklung um 3 Tage, das Säuremaximum wurde 3—5 Tage später erzielt, erreichte aber dieselbe Höhe wie in Nährlösung I. Die 4fache Verdünnung der letzteren auf 0,125% Asparagin, 0,063% prim. Kaliumphosphat und 0,033% Magnesiumsulfat war als Nährlösung mit 2% Propylalkohol unbrauchbar.

3. Butyl- und Isobutylalkohol mit B. aceti.

Im 1proz. Butylalkohol entwickelte sich die Aussaat nach 20 Tagen sehr schwach, in Nährlösung III überhaupt nicht mehr. 1% Isobutylalkohol ließ in diesen verdünnten Nährlösungen kein Wachstum mehr aufkommen.

Wirkung von B. ascendens auf die Alkohole. Die Versuchsreihen hatten B. ascendens als stärker säuernde Bakterienart gezeigt. Auch in den Nährlösungen II und III hatte sich B. ascendens als besser und schneller oxydierend erwiesen. Da die Versuchsreihen nichts Neues ergaben, sah ich von einer Aufstellung der Ergebnisse ab.

B. Wirkung der doppelt und vierfach verdünnten Nährlösung auf die Verarbeitung von Essigsäure durch B. ascendens und B. aceti.

Essigsäure mit B. ascendens (Kurve 5).

1. Versuchsreihe: 1,72 g Essigsäure in Nährlösung II (dest. Wasser). In 9 Tagen gut sich entwickelndes Wachstum.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	0	28,7	28,65	1,72	1,72
	12	22,7	23,0	1,36	1,38
	21	13,1	13,5	0,79	0,81
	35	9,4	9,5	0,56	0,57
	45	6,7	6,9	**0,4**	**0,41**

Auch in der doppelt verdünnten Nährlösung gediehen die Bakterien ausgezeichnet und verbrannten 1,72 g Essigsäure bis auf 0,4% in 45 Tagen.

2. Versuchsreihe: 1,72 g Essigsäure in Nährlösung III (dest. Wasser). Entwicklung nach 12 Tagen, das Gedeihen der Einsaat war schwächer als in den Nährlösungen I und II.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	0	28,65	28,65	1,72	1,72
	14	24,5	25,4	1,47	1,52
	21	19,7	19,1	1,18	1,15
	35	14,5	15,1	0,87	0,91
	45	10,3	10,9	**0,62**	**0,64**

Besonders in Nährlösung III erwies die noch gute Entwicklung der Einsaat den relativ hohen Nährwert der Essigsäure, die nur um wenige Tage später als in Lösung II aufgezehrt wurde.

Essigsäure mit B. aceti (Kurve 5).

1. Versuchsreihe: 98 ccm Nährlösung II (dest. Wasser) + 1,72 g Essigsäure. Beginnendes Wachstum nach 10 Tagen, Weiterentwicklung gut, klare Lösung, starker Bodensatz.

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	0	28,6	28,65	1,716	1,72
	12	20,7	21,5	1,24	1,29
	21	9,5	9,8	0,57	0,59
	35	4,3	4,7	0,26	0,28
	45	1,0	1,5	**0,06**	**0,09**

Auch in doppelt verdünnter Nährlösung ernährte 1,72proz. Essigsäure noch gut. In 45 Tagen war sie nahezu verbraucht, in Nährlösung I wurde die Säure etwa 7 Tage früher abgebaut.

2. Versuchsreihe: 98 ccm Nährlösung III (dest. Wasser) + 1,72 g Essigsäure. Gutes Anwachsen in 12 Tagen, Weiterentwicklung zwar schwächer als in Lösung II, aber ebenso stark wie in 2 proz. Äthylalkohol (Lösung I).

Titration:	Tage	Verbrauch an ccm KOH		% Essigsäure	
	0	28,65	28,7	1,72	1,72
	14	23,9	24,7	1,43	1,48
	21	15,1	16,0	0,91	0,96
	35	10,2	10,7	0,61	0,64
	45	7,1	7,4	**0,43**	**0,44**

In dieser vierfach verdünnten Nährlösung machte sich der gute Nährwert der Essigsäure besonders geltend.

Zusammenfassung.

Das Wesentliche meiner Feststellungen ist die Tatsache, daß der Äthylalkohol in gleichem Sinne wie etwa Zucker u. a. ein Nährstoff für Essigbakterien ist, er wird teils als Baustoff von diesen assimiliert und teils im Betriebsstoffwechsel zu Essigsäure oxydiert. Diese ist gleichfalls Nährstoff und wird schon bei Gegenwart von Alkohol, wahrscheinlich gleich nach ihrer Bildung, je nach der angewandten Alkoholkonzentration, mehr oder weniger schnell weiter verarbeitet.

1—4% Äthylalkohol zeigen gute Nährfähigkeit bei Verwendung von Asparagin als Stickstoffquelle, sie fördern die Vermehrung der Einsaat und werden lebhaft gesäuert, die gebildete Essigsäure wird nicht durch den vorhandenen Alkohol gedeckt, sondern allmählich als Bau- und Betriebsstoff wieder verbraucht.

8% Äthylalkohol wirken wachstumshemmend, nur langsam entsteht Säuerung, der verminderte Verbrauch der Essigsäure wird durch die höhere Verdunstung ausgeglichen, so daß auch hier die Ausbeute nur etwa 50% der berechneten Menge beträgt.

12% Äthylalkohol wurden nur bei fraktionierter Zugabe ertragen und erst nach 2½ Monaten und mehr stieg das Säuremaximum über 6% (B. ascendens) bzw. 4,79% (B. aceti). Die hohe Alkoholkonzentration schützt die Essigsäure in erheblichem Maße vor der Verarbeitung. Da aber ihre Entstehung noch mehr Zeit in Anspruch nimmt als in 8proz. Alkohol, kann auch hier infolge der Alkoholverdunstung keine bessere Ausbeute erzielt werden.

Die gute Nährfähigkeit der Essigsäure (1,72 proz.) überrascht, die Bakterien gedeihen merklich besser als im 1—4 proz. Äthylalkohol. Schon allein diese Tatsache legt die Annahme nahe, daß die Essigsäure gleich nach ihrer Bildung durch die Lebenstätigkeit der Bakterien teilweise wieder verschwindet, da nicht einzusehen wäre, warum ein beide Kohlenstoffquellen gut assimilierendes Bakterium ausschließlich die eine und erst nach deren Verbrauch die andere, und zwar den besseren Nährstoff, angreifen sollte.

Die übliche Bezeichnung der Wiederzersetzung der entstandenen Essigsäure als Überoxydation ist streng genommen unzutreffend, denn Alkohol wie Essigsäure verschwinden nicht nur durch bloße Oxydation, sondern auch durch Verbrauch im Aufbau der Zelle.

Die Praxis der Essigdarstellung arbeitet bekanntlich stets unter Zusatz zuckerartiger Stoffe (Syrup, Maische u. a.), durch die die Ernährungsbedingungen der Bakterien wohl verbessert werden, als Kohlenstoffnahrung dürfte Zucker den Alkohol und die Essigsäure übertreffen und besseres Wachstum hervorrufen. Dadurch ist ein schnellerer Umsatz des Alkohols bedingt, auch bietet die Gegenwart von Zucker einen gewissen Schutz gegen die Aufzehrung der Essigsäure, die Praxis erreicht Ausbeuten bis zu ca. 80% Essigsäure.

Ganz unterschiedlich vom Äthylalkohol verhalten sich seine Homologen. Methylalkohol ist kein Nährstoff, ebensowenig Isopropylalkohol.

Propylalkohol nährt in höchstens 2proz. Konzentration noch recht merklich, wogegen n-Butyl- und besonders Isobutylalkohol sehr bescheidenen Nährwert haben, auch nur zu 1% von den Bakterien ertragen werden.

Propion-, Butter- und Isobuttersäure wurden bis höchstens 1,4% bzw. 0,53 und 0,24% durch B. ascendens, bis 1,17%, 0,14 und 0,1% durch B. aceti erzeugt. Sie werden nicht angegriffen, die Azidität bleibt nach Wochen die gleiche. So kann auch hier ein erhebliches Mehr — auf angewandten Alkohol berechnet — entstehen, beim Propylalkohol bis 80%. Butyl- und Isobutylalkohol verhindern durch ihre stärkere Giftwirkung einen gleich hohen Umsatz in Säure.

Säurebildung und Nährfähigkeit der einwertigen Alkohole hängen nicht etwa vom Vorhandensein einer primären Alkoholgruppe ab, man könnte das aus der Nichtbrauchbarkeit von Isopropyl-, sek. und tert. Butylalkohol folgern, aber außer Methylalkohol sind n-Hexyl-, Benzyl- und β-Phenyläthylalkohol gleichfalls unbrauchbar.

Außer diesen Alkoholen sind bislang auch n-Propyl-, Butyl- und Isobutylalkohol in mineralischer Nährlösung noch nicht geprüft worden.

Die Unterschiede der beiden Bakterienarten sind nur in einzelnen Fällen nennenswert. B. ascendens erzeugt etwas mehr Säure, die Ansäuerung des Äthylalkohols und der beiden Butylalkohole durch ihn war merklich stärker, weniger die des Glykols und des Propylalkohols. Soweit die wenigen Versuche ein Urteil gestatten, wächst B. ascendens auf Glyzerin, säuert es aber nicht. Erythrit wird nicht angegriffen.

Die Frage, ob nun diese an sich geringen Unterschiede im Säuerungsvermögen zu einer Trennung in verschiedene Spezies berechtigen, will ich hier unerörtert lassen.

Alkohol- und Säuremaximum (%) für die beiden Essigbakterien.

	Alkohol (%)		Säure (%)		% Säure auf angew. Alkohol	
	I	II	I	II	I	II
Methylalkohol a	0	0	—	—	—	—
Methylalkohol b	0	0	—	—	—	—
Äthylalkohol a	12	12	5,3	4,6	45	39
Äthylalkohol b	12	12	6,0	4,8	51	40,6
Propylalkohol a	2	2	1,16	1,1	58	55
Propylalkohol b	2	2	1,4	1,2	70	59
Isopropylalkohol a	0	0	—	—	—	—
Isopropylalkohol b	0	0	—	—	—	—
Butylalkohol a	1	1	0,5	0,15	54	16
Butylalkohol b	1	1	0,53	0,14	55	15
Isobutylalkohol a	1	1	0,24	0,08	25	8
Isobutylalkohol b	1	1	0,23	0,1	24	10
Glykol a	1	1	0,48	0,36	35	28
Glykol b	1	1	0,51	0,38	38	28
Glyzerin a, b	bei 2% Wachstum (B. ascendens), keine Säuerung					

Butylalkohol (sek. und tert.), n-Hexyl-, Benzyl- und Phenyläthylalkohol, ferner Glyzerin (B. aceti) und Erythrit ergaben kein Wachstum und keine Säuerung.

I = B. ascendens; II = B. aceti; a = Versuche mit destill. Wasser, b = Versuche mit Leitungswasser.

Nicht nur Alkohole, sondern auch Essigsäure und andere organische Säuren ernähren die beiden Bakterien. Milchsäure zeigt in 0,9- bzw. 0,45 proz. Konzentration für B. ascendens höheren Wert als 0,59 bzw.

0,295% Bernsteinsäure. B. aceti verbraucht die Essigsäure schneller als B. ascendens, woraus sich u. a. die geringere Ausbeute an Essigsäure in Äthylalkohollösungen durch jenes erklärt.

In allen Versuchen erweist sich Leitungswasser dem dest. Wasser überlegen. Die Bakterieneinsaat vermehrt sich schneller und daher werden höhere Ausbeuten erzielt.

Auch die Wasserstoffionenkonzentration spielt eine wichtige Rolle. Der ph-Wert von 4,5—5 zeigt sich für das Anwachsen der Einsaat günstig, während Alkalität die Vermehrung hindert.

Literaturverzeichnis.

1. Lafar, Handbuch d. Techn. Mykologie. Bd. 5. Jena 1914; auch Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 1. 1895. S. 129. — 2. Benecke, Pflanzenphysiologie. 4. Aufl. 1924. I. S. 374. — 3. Hermann, Biochem. Zeitschr. Bd. 233. 1931. Heft 1—3. — 4. Krehan, Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 1. 1931. Heft 4. — 5. Henneberg, Deutsche Essigindustrie. Bd. 2. 1898. S. 19; Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1897. S. 233; ebenda. Bd. 4. 1898. S. 14 u. 145. — 6. Virtanen, Biochem. Zeitschr. Bd. 169. 1926. S. 169. — 7. Beijerinck, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 4. 1898. S. 209. — 8. Hoyer, Deutsche Essigindustrie. Bd. 3. 1899. Nr. 1—25. — 9. Janke, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 45. 1916. S. 534. — 10. Perold, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 24. 1909. S. 13. — 11. Seifert, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1897. S. 337, 386. — 12. Brown, Journ. Chem. Soc. London, Transact. Vol. 49. 1886. p. 172. — 13. Wehmer, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. 1905. Bd. 15. S. 15. — 14. Pasteur, Annal. scientif. de l'Ecole norm. superieure. 1864. p. 113—158. — 15. Müller, D., Biochem. Zeitschr. Bd. 238. 1931. S. 253. — 16. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie. 1910. S. 431. — 17. Yamada, Bull. Agr. Chem. Soc. of Japan. Bd. 3. 1927. S. 80.

Nachdruck verboten.

Algae as Additional Hosts of Pathogens to Angiosperms (Preliminary note).

[From the Department of Botany, University of Illinois, Urbana.]

By **B. T. Palm.**

During a recent study of the morphological relationship between lichen-fungi and their algal host-plants, it was found that the former were plainly parasitic on the latter. In the majority of cases studied, the morphological expression of this parasitism is the presence of either typical haustoria or hyphal penetration into the algal cells. Corollary studies of the lichen thallus showed conclusively that lichens are fungi which form sclerotia or stromata — i. e., the lichen-thallus — when parasitic on certain types of algae. Once the nature of the thallus of lichens had been established, there remained no reason for considering the lichen-fungi as being different from other fungi[1]).

That a number of lichens may behave as "ordinary" parasites on mosses or higher plants has already been well established, although it has been commonly overlooked (Fitting 1910, Miss Porter 1917, MacWhorter 1921, Philipps 1929). In current terms of phytopathology such a state of affairs must be interpreted as indicating an exceptionally wide host

[1]) An extensive paper on this subject (see literature cited) is ready for publication.

range, the individual lichen-fungus being parasitic concurrently on a moss and an alga, or on an angiosperm and a species of algae. Unpublished studies by the writer have established new instances of such host ranges for several lichen-fungi.

The existence — according to estimates in lichenological literature, of — in round numbers — 10,000 to 15,000 species of lichens, or, in the writer's interpretation, of a very great number of ascomycetes parasitic on algae inevitably suggested the possibility of other ascomycetes also being parasitic on algae. The great number of fungi which at one time or another have been described as lichens but discarded as not being "true" lichens, as well as several other considerations, made it seem warranted to undertake infection experiments with certain ascomycetes which are known as pathogens on higher plants. From the point of view of practical phytopathology such experiments would be of marked interest. The final choice of fungi to be used in the experiments was guided by the following considerations. In order to insure, as far as possible, positive infection, ascomycetes known to possess an extensive range of phanerogamic hosts should be selected. Amongst such forms, species which pass at least a part of their life cycle in the soil, — even if they are commonly regarded as "saprophytes" when living in the soil — ought to be given preference.

The first consideration is obvious, the second one perhaps needs some comment.

It has long been known that agricultural soils support a rich though somewhat monotonous subaerial vegetation of Cyanophyceae and Chlorophyceae. This vegetation does not, to any great extent, differ from that present in pools and ditches. Of a more recent date is our knowledge of the existence of a varied subterranean algal vegetation. Bristol-Roach (1927), Esmarch (1914), Moore and Carter (1926), Richter und Orlowa (1928) (see also summary by Waksman 1927) have established the presence of about 60 algal species (algae taken in the widest sense). More important than the number of species found is the fact that some of these species are present in an enormous number of individuals. Thus certain soils, according to the calculations of Bristol-Roach and of Richter und Orlowa, harbor at certain depths per milligram of dry weight of soil from 60,000 to 100,000 individuals. This algal vegetation in the soil would add, if it could be utilized by parasitic fungi, a potential medium for their development and maintenance, surpassing by far the phanerogamic vegetation in potential host values. It would also provide a practically uninterrupted growing season, as at certain depths at least the soil-climate will remain relatively unchanged the year round.

Concurrently with the Ascomycetes several Phycomycetes, causing root diseases of higher plants, were included in the experiments.

In this preliminary note only one infection experiment with an Ascomycete (Rosellinia necatrix) and one with a Phycomycete (Pythium mamillatum) will be given, the full account of the series of infection experiments as well as of other phases of study being reserved for a future paper.

Rosellinia necatrix.

This fungus causes a serious wilt disease of Vitis vinifera in Europe and attacks besides a variety of higher plants. Like other species

of the genus, it is easily recognized even in a sterile condition as the cells of its mycelium show characteristic unipolar swellings near the cross walls between the cells. In the infection experiments, a culture received from the Centraal Bureau v. Schimmelcultures in Baarn (Holland) was used throughout. The algae, Vaucheria sp. and Hydrodictyon sp., were obtained from a local greenhouse resp. from a commercial supply-house in New Orleans; both were free from fungi (freedom from bacteria was not considered necessary).

Small quantities of aerial Rosellinia-mycelium from a fresh subculture were applied to vigorously growing mats of Vaucheria which had just been transferred — with adhering soil — from the greenhouse to Petri dishes, the bottom of which had been covered by a moist piece of filter paper. Four squares of Vaucheria were placed in each Petri dish; two were infected and the other two were used as controls. — The Hydrodictyon-material was put into similarly treated Petri dishes — without soil, however, — and with a more generous supply of moisture.

The growth of the Rosellinia-mycelium was watched macroscopically daily; on the Vaucheria good growth was registered already on the second day, while on the Hydrodictyon the development was considerably slower. On April 14th, 1931, three days after the beginning of the experiment, it was evident that the Rosellinia on Vaucheria was killing its host; on Hydrodictyon there was less evidence of a successful attack. A microscopical examination of living material showed that Rossellinia had acted as a powerful parasite on Vaucheria, the filaments of the alga having been surrounded and penetrated extensively by the mycelium. The cell contents of the infected Vaucheria-threads showed pronounced signs of chlorophyll destruction in the protoplast; fatty degeneration products were also visible. The Rosellinia-mycelium looked in all respects normal and healthy.

For the purpose of control, infected as well as uninfected (from the check material) Vaucheria was killed in Zenkers fluid, imbedded in paraffin, sectioned and stained with haematoxylin. This material confirmed the findings on the living host and showed besides that young zygotes of Vaucheria had been penetrated and completely filled by a mass of more or less parenchymatous Rosellinia-mycelium.

The Hydrodictyon was treated in the same manner and actual penetration was found on living and fixed material, although apparently the development of the mycelium was less extensive.

Identical results have been obtained with a species of Cladophora as host plant for the Rosellinia.

Other infection experiments on Vaucheria, Cladophora and several Chlorophyceae as well as Cyanophyceae have shown that amongst others Gibberella saubinetii (Fusarium-stage), and Cylindrocarpon mali, can act as parasites on one or several of the above-mentioned algal hosts.

Pythium mamillatum.

For the experiments this Pythium was chosen because of its characteristic — spiny — oospores. The cultures of this organism had been obtained from the same source as the Rosellinia. The procedure was in the main the same as already indicated under Rosellinia with the difference, however, that a number of infections were undertaken with the host-alga in hanging

drops in van Tieghem's cells. Cladophora sp. was used in these tests; uninfected checks were maintained.

Small pieces of the fluffy aerial mycelium from a Pythium culture on steamed rice were brought into contact with the algal material. When examined after three days, it was found that a number ol Cladophora-cells had been penetrated and many of them partly or wholly disorganized by the mycelium of the fungus. The infection obtained in the Petri dishes was more intensive than in the hanging drops. A few host-cells contained oospores, while in most cases oospore formation took place outside of the host. That the oospores were formed within the Cladophora cells was evident, among others, from the fact that the spines of the epispore were curved through contact with the host cell wall against which they had developed. The checks showed no infection.

Repeated experiments with this Pythium on Cladophora as well as on a species of Gloeocapsa have in most instances given positive infection.

The result recorded above corroborates the work of Sparrow (1931 a, b) with other species of Pythium for which he has established an extensive host range, comprising hosts from various orders of algae, as well as mono- and dicotylous plants. At the time my experiments were performed, Sparrow's papers had not yet appeared.

It is keenly realized by the present writer that the results gained so far by Sparrow and myself have not been obtained under "natural" conditions, by carrying out the infection experiments in the soil or on subterranean algae. This phase of the work still remains to be done. On the other hand, our experiments carry already, preliminary as they are, a distinct challenge to revise our current rather narrow conceptions of potential host range among the lower as well as the higher fungi. A host range of, at present, unexpectedly wide extension in some types of fungi will thus surely be found to exist side by side, so to speak, with a high degree of specialization in others.

Viewed from the standpoint of the phytopathologist these results strongly suggest the potential importance to phytopathology of the algal vegetation, subaerial as well as subterranean, of agricultural and natural soils; from the same viewpoint the epiphytic algal vegetation deserves attention. The solution of many puzzling problems in the life-histories of our apparently well-known soil fungi may not unreasonably be expected from a study of their relationship to this flora. We have here, in the opinion of the writer, a promising line of approach towards a better understanding of the conditions which possibly influence the development of a great number of pathogenic fungi outside of their phanerogamic host plants.

Literature cited.

Bristol-Roach, Muriel B., The present position of our knowledge of of the distribution and function ol Algae in the soil. (Proc. and papers 1st Internat. Congr. Soil-Science. Vol. 3. 1927. p. 1—9.) — Esmarch, F., Untersuchungen über die Verbreitung der Cyanophyceen auf und in verschiedenen Böden. (Hedwigia. Bd. 5. 1914. S. 224—273.) — Fitting, H., Über die Beziehungen zwischen den epiphyllen Flechten und den von ihnen bewohnten Blättern. (Ann. jard. bot. Buitenzorg. 3me suppl. 1910. p. 505—518.) — Moore, G. T., and Carter, N., Further studies on the subterranean algal flora of the Missouri botanical garden. 1926. —

Mac Whorter, Gr. P., Destruction of mosses by lichens. (Bot. Gaz. Vol. 72. 1921. p. 321—325.) — Palm, B. T., The morphological relationship between lichen-fungi and their algal host-plants (in manuscript). — Philipps, J. F., The influence of Usnea (near barbarta Fr.) upon the supporting tree. (Trans. Roy. Soc. So Africa. Vol. 17. 1929. p. 101—108.) — Porter, Lilian, On the attachment organs of the common corticolous Ramalinae. (Proc. Roy. Irish Acad. Vol. 34. 1917. p. 17—32.) — Richter, A., und Orlowa, K., Quantitative Feststellung der Algen-vegetation in dem Boden bei Saratow. (Journ. f. Landwirtsch. u. Wissensch. Moskau. Bd. 5. 1928. S. 315—323.) — Sparrow, F. K., Jr., Two new species of Pythium parasitic on green Algae. (Ann. of Bot. Vol. 45. 1931 a. p. 257—277.) — Sparrow, F. K., jr., Observations on Pythium dictyosporum. (Mycologia. Vol. 23. 1931 b. p. 191—203.) Waksman, S. A., Principles of soil micro-biology. (Baltimore 1927. pp. 897.)

Nachdruck verboten.

The Cholodny Technic for the Microscopic Study of the Soil Microflora.

[From the bacteriological laboratories of New York Agricultural Experiment Station, Geneva, N. Y.]

By **H. J. Conn.**

With 4 figures in the text.

Not long ago a paper by Cholodny (1931) appeared, the full significance of which does not yet seem to be appreciated by soil microbiologists. This paper presented a new procedure for the direct microscopic study of the soil microflora and introduced an original and very simple principle of technic. This new idea was to incubate the slide in the soil, instead of transferring the soil organisms to the slide by drying soil infusion on it or otherwise. The method promises to give an entirely new conception of soil microörganisms in their mutual relationships and to offer an interesting method of attack in studying floral changes.

The only reference in the literature yet noticed which shows an appreciation of Cholodny's contribution is by Waksman (1932). In the second edition of the latter's book on Soil Microbiology, the plate illustrating the microscopic appearance of soil organisms has been revised, and all but one of the new illustrations in this plate have been taken from Cholodny. Even Waksman apparenty fails to realize the importance of the procedure, and after giving details of the method, adds a criticism of the microscopic technic in general which is repeated from the first edition of the book. This criticism states that the microscopic procedure is not applicable to quantitative work, altho admitting that it has its value for qualitative purposes. This criticism is hardly fair as applied to the Cholodny method, as this procedure was not intended for quantitative work, and a valuable technic should certainly not be criticised for failing to serve a purpose for which it was not designed by its author.

Historical.

The first suggestion of the direct microscopic study of soil microörganisms seems to have been made by the writer (1917) in a paper before the Society

of American Bacteriologists. This was shortly followed by a more detailed discussion of the procedure and its application (Conn, 1917). The procedure given then has been slightly modified later (see Conn, 1926, 1928). The method is essentially to make an infusion of soil (1 to 9) in dilute gelatine (0.015%), to dry this on a slide and stain with phenolic rose bengal. This dye was selected as giving the desired degree of intensity, that is staining the bacteria sufficiently for easy recognition without coloring the dead organic matter too deeply. The latter papers above mentioned show that other dyes of the same group, such as erythrosin or phloxine (cyanosine) can also be used with practically as good results. The writer continues to prefer rose bengal on account of its shade, but has no objection to erythrosin which has been preferred by Winogradski and Rossi, or to phloxine.

No serious attention was given to the method by other bacteriologists, nor was it developed further by the writer, until Winogradski (1924, 1925), in a series of papers discussed the direct method of studying bacteria in soil. Much of Winogradski's procedure is cultural and should hardly be called a "direct method"; but part of his technic is a modification of the writer's microscopic method. The most important modification consists of the use of a centrifuge to obtain several fractions of the soil infusion, in one of which the desired microörganisms are concentrated. Altho this modification is valuable in concentrating organisms that occur in small numbers only, it makes the method less "direct" than that originally proposed by the writer. The only other significant modification by Winogradski was to employ erythrosin instead of rose bengal, a change which is of little significance, as explained above. Erythrosin is possibly to be preferred to rose bengal in soils of high humus content, but with the ordinary agricultural soils of the United States the writer prefers rose bengal. Winogradski employed this microscopic technic primarily in studying the occurrence of Azotobacter in soils. In his later work in which he has developed methods for studying the distribution of other kinds of bacteria in soil, he has preferred the use of silicate jelly plates rather than the microscopic technic; accordingly, the latter has not been further developed by him.

Meanwhile Winogradski's endorsement of the microscopic procedure has brought it to the attention of various European soil bacteriologists, some of whom even seem to be unaware that it did not originate with him, altho Winogradski makes proper acknowledgment as to its authorship. Several of these later investigators have made important modifications of the procedure. Notable among these are the contributions of Koffman (1928, 1931), Rossi (1928), Rossi and Riccardo (1927), Rossi and Gesuè (1930) and Cholodny (1930).

Koffman's work is intended less to develop a direct method than to adapt the microscopic technic for accurate counting. The usual microscopic technic has, as stated above, been criticised because accurate counts cannot be obtained by it. Koffman, on the other hand, has devised quite an elaborate apparatus for agitating and sampling soil infusion and has worked out methods for fixing and staining an accurately measured portion of the infusion without drying it to the slide. By means of this method none of the soil particles or microörganisms are lost so that a quantitative determination of the different kinds of microörganisms seen can be made.

Also of interest in connection with Koffman's paper is the dye which he employs. He calls the dye "alcohol soluble cyanosin" and very commendably gives its formula so that one can tell just what he is using. The dye is the ethyl ester of cyanosin or phloxine. This is a dye with which the writer has had no experience. It should bear the same relation to phloxine that alcohol soluble eosin does to eosin Y. This dye certainly deserves study as a stain for bacteria in soil.

Rossi's procedure is entirely different and is, beyond question, the most direct method for examining bacteria in the soil that has been proposed. A vertical surface of soil is exposed and a slide held in a special holder is pressed against the surface. The slide is then removed and the contact preparation thus obtained is stained with erythrosin. This method shows the colonies of microörganisms as they actually occur on the soil and brings out many points of interest. It has not as yet been much employed elsewhere, partly because of the difficulty of obtaining a holder for the slides such as described by Rossi.

The modification of the microscopic method which is being considered in the present paper was proposed a few years ago by Cholodny (1930). The procedure as described by its originator is to cut a shallow trench in the soil and then to press a slide against the vertical surface of the undisturbed soil with one end of the slide a little above the top of the soil. The method differs from that of Rossi, however, in that the slide is not removed immediately but the soil is packed in loosely behind it and the slide is allowed to stay in place for some time. When it is finally taken out, the soil is removed carefully behind the slide and the latter pulled sharply away from the undisturbed soil so as to leave the film attached to the slide which has been formed by the microörganisms growing upon it. This slide is dried and stained.

Fig. 1. A tumbler of soil with two slides inserted, for studying the flora by the Cholodny method.

Methods Employed.

The procedure adapted in the present work is that of Cholodny with only very minor modifications. Instead of digging a trench in the field soil for inserting the slide, the soil is placed in jelly tumblers provided with a cover and two slides are inserted. (See figure 1.) Altho soil thus handled is likely to be quite different from that in the field itself, this modification gives the advantage of making it possible to control the conditions and to investigate the effect of various treatments on the soil to much better advantage than can be done in the field.

A second slight modification is in the time of incubation. Cholodny recommended about two weeks before removing the slide, while the writer has ordinarily found more interesting results if the slides are kept in place

only about 5 to 7 days. Actually the time of incubation has varied. Usually one slide is removed in about five days and a new one put in its place. The second slide is removed in about seven days from the time of insertion, and the slide inserted where the first was removed is taken out after being in place five or six days.

The stain employed in the present work has been rose bengal, not erythrosin as employed by Cholodny.

The formula is as follows:

Rose bengal	0 g
Calcium chloride	0.01 g
5% aqueous phenol	100 cc.

Two methods of applying the stain have been tried. One method is to let the slides lie flat on a surface over a boiling water bath and to pour the stain on top of the slide allowing it to stay one minute, replenishing

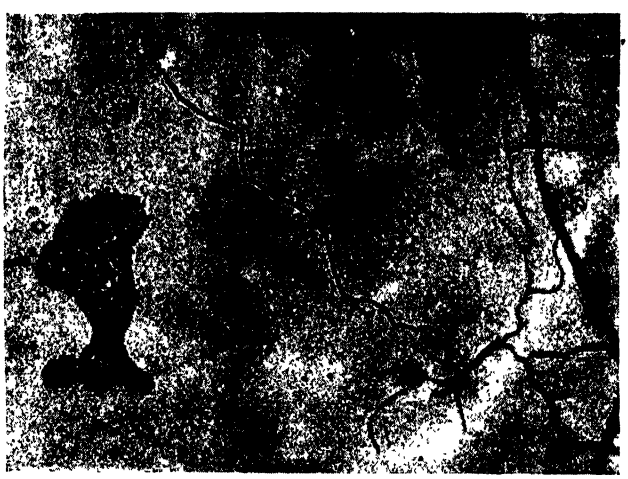


Fig. 2. A colony of bacteria, a small Actinomyces colony, and a fungus filament, as shown by the Cholodny technic.

it occasionally to keep it from drying out. The second method is to keep the stain in a staining jar which sets in boiling water, then to insert the slides after the stain inside the jar begins to steam; the slides are allowed to stay in the hot staining fluid for one minute. The former method seems to give the better stained preparations.

Use of the Procedure.

Cholodny's paper is accompanied by a considerable number of photo-micrographs showing various types of colonies observed in the soil by this method. Practically all of the forms photographed by him have been observed here. One or two illustrations accompany this article.

Figure 2 is interesting as showing a fungus filament crossing the field, an Actinomyces colony and a colony of bacteria.

Figure 3 shows a fungus filament surrounded with bacteria. This phenomenon is shown by Cholodny in his Figures 8 and 9 and has been frequently observed here. It seems to be of some significance in soil but its

exact meaning is not yet determined. The bacteria surrounding these mold filaments might be merely physically attached, but the frequency with which such filaments are found to be devoid of stainable contents suggests that they are dead and that the bacteria are living upon the organic matter of which they are composed. Indications are at hand that this phenomenon is likely to be noticed when a predominately fungal flora is being altered to a bacterial flora in some soil.

The method is being used in the writer's laboratory for three different purposes, for all of which it appears to have considerable promise: First, in determining differences in the flora of different soils; second, in determining the effect of fertilization and moisture changes on the flora; third, studying colony production in pure culture.

The first of these three purposes, that is, studying differences in the flora of different soils, is one of the lines in which this procedure seems most

Fig. 3. A decaying fungus filament in soil, surrounded by masses of bacteria.

interesting. This is the case because it is quite difficult by many bacterial methods to bring out the distinct differences between different soils. The Cholodny method, on the other hand, shows very distinct differences. Under some conditions the flora appears to be predominately fungal; under others bacterial. These distinctions show up by this technic even tho plate method and the usual microscopic technic show no appreciable differences. It is still uncertain, to be sure, whether they represent inherent differences between the soils or merely those due to treatment. Altho this point still remains to be determined, the great differences that have been observed are very promising, in view of the lack of variation observed by other methods.

The second application of the method which seems to be important is in studying the effect of soil treatment upon the flora. This is difficult to undertake by the procedure originally described by Cholodny but is easy to accomplish when the method is modified by the use of tumblers as here suggested. It has already proved possible by the addition of mineral salts and by changes in moisture content to alter the flora of a soil from one type to another, and such changes are brought out very distinctly by

this procedure. In the writer's opinion this is at present one of the most promising uses to which the method can be put.

Whether the procedure be employed for studying differences between soils or effects of treatment of a soil, one defect of the method must be taken into account: namely, that there is no way of securing a representative sample to examine. There is evidence that the picture may be distinctly different on two slides a short distance apart. One must, therefore, examine several slides from the same soil under identical conditions before drawing definite conclusions. It still remains to be determined how serious this weakness of the method is in practical use.

Another weakness of the technic at the present time is the inability to judge the species of the different forms observed. This is particularly true in the case of bacteria with a very slight morphological variation. Molds and Actinomycetes, on the other hand, may well prove much

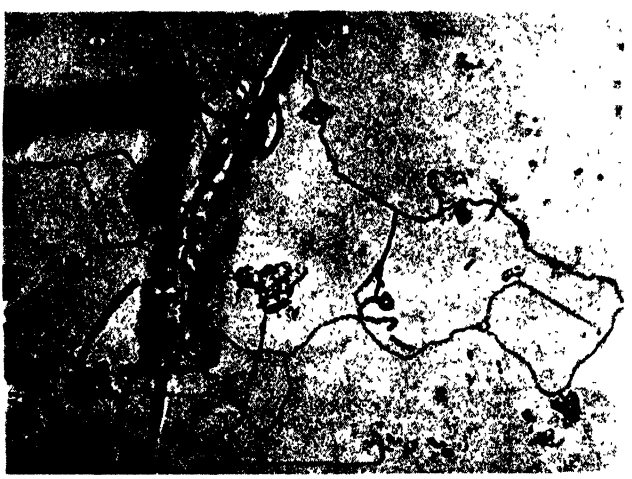


Fig. 4. An Actinomyces colony in soil. The Cholodny method furnishes a picture of conidiophores of both Actinomycetes and fungi in their natural orientation, thus giving some clue as to identity of species.

easier to separate one from another. One of the strong points of the procedure is that the different organisms occur in their natural orientation. In the case of the two groups of organisms just mentioned, it is particularly important because it shows arrangement of the spores and in this way may give an actual clue as to the identity of species. No such definite information can be obtained in the case of bacteria altho it is noticeable that they occur in characteristic colonies. This is the reason for the third application of the method suggested above; namely, the suggestion of colony production in pure culture.

The exact technic for this pure culture work has not yet been perfected. It is, of course, necessary to sterilize the soil, to inoculate it, and to maintain it free from contamination. This can sometimes be done in tumblers by keeping their tops wrapped in cotton. The method is awkward and not always efficient, however, and it is hoped to improve upon it. There seems to be no reason why large test tubes and unusually narrow slides cannot be used for the purpose. Little has as yet been done here in the study of

pure culture by this method and no knowledge of their natural colony forms has been obtained that is at all conclusive. The idea is merely offered here as a suggestion of a possible valuable application of the procedure.

Value of the Method.

The real point to this paper is not to present any results obtained by the means of this procedure, but merely to call attention to the possible value of Cholodny's method. Very little attention has yet been given to the procedure among soil bacteriologists and the writer feels that it should come into general use. The method shows distinct differences between the flora of various soils. It shows so plainly the characteristic colony formations of the organisms and finally brings out so beautifully the occurrence of some soil organisms in association with others, that the wide use of this method may well disclose various secrets of soil microbiology.

Expecially important seems to be the fact that the Cholodny method is satisfactory to indicate a change in the predominating flora of a soil from fungi or Actinomycetes to bacteria or vice versa. This method seems to be the only one so far proposed that can bring out this point, since the plate method tends to count only the spores of the filamentous organisms, while the earlier microscopic methods fail to show these organisms in anything like their true abundance.

Literature.

1. Cholodny, N., Über eine neue Methode zur Untersuchung der Bodenmikroflora. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 620—652.) — 2. Conn, H. J., The microscopic Study of Bacteria and Fungi in Soil. (N. Y. Agric. Exp. Station, Techn. Bull. 64. 1927.) — Conn, H. J., An Improved Stain for Bacteria in Soil. (Stain Technology. Vol. 1. 1926. p. 125—128.) — 4. Conn, H. J., A Type of Bacteria Abundant in Productive Soils, but Apparently Lacking in Certain Soils of Low Productivity. (N. Y. Agric. Exp. Station, Techn. Bull. 138. 1928.) — 5. Koffman, M., Eine Methode zur direkten Untersuchung der Mikrofauna und der Mikroflora des Bodens. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 75. 1928. S. 28—45.) — 6. Koffman, M., Weiteres zur Methode der direkten Untersuchung der Mikrofauna und Mikroflora des Bodens. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 85. 1931. S. 1—11.) — 7. Rossi, G. M., Il terreno agrario nella teoria e nella realta. (L'Italia Agric. No. 4. Apr. 1928.) — 8. Rossi, G., and Gesuè, G., Di un nuovo indirizzo nello studio biologico del suolo. (Ann. Techn. Agraria. Vol. 3. 1930. p. 196—248.) — 9. Rossi, G., and Riccardo, S., L'esame microscopico e batteriologico diretto del terreno agrario. (Nuov. Ann. dell Agric. Vol. 7. 1927. p. 457—470.) — 10. Waksman, S. A., Principles of Soil Microbiology. 2nd edition. Baltimore (Williams & Wilkins) 1932. — 11. Winogradsky, S., Sur l'étude microscopique du sol. (Acad. d. Sci., C. R., T. 179. 1924. p. 367.) — 12. Winogradsky, S., Études sur la microbiologie du sol. I. Sur la méthode. (Ann. Inst. Past. T. 39. 1925. p. 299—354.)

Nachdruck verboten.

A study of the virus from the apparently healthy potato variety "Green Mountain".

By **Jikke H. H. van der Meer**, Wageningen, Netherlands.

With 11 figures in the text.

Introduction.

Carrying out some experiments in the greenhouses at Wageningen (Holland), the writer's attention was drawn to the characteristic symptoms of disease, shown by Datura Stramonium L. and tobacco after grafting with a shoot of the apparently healthy potato variety "Green Mountain". The disease could also be transmitted by inoculation with juice. Grafting tobacco with a piece of Green Mountain-tuber, or inoculating with the tuber-juice had the same results. The last fact made it possible to experiment with the Green Mountain-virus in winter. A lot of different plants were inoculated successively. It was observed, that Datura Stramonium reacted in the shortest time and besides showed very distinct symptoms of disease. Therefore Datura was used as indicator in different experiments with the Green Mountain-virus, in order to study the influence of aging, of temperature, of dilution, of alcohol, the time of transmission from the infected leaf to the stem and whether the different symptoms of disease were caused by the same virus. Thanks to the quality of the Green Mountain-virus to remain active outside the living plant during a rather long period, the mentioned experiments could be carried out. A comparison was made between the properties of the Green Mountain-virus and those of the viruses described by Johnson (8). Finally the action of the virus from other carriers than "Green Mountain" was studied on the same host, Datura Stramonium. The investigations took place in the year 1930 and 1931.

1. Methods.

All possible precautions were taken in order to avoid any contamination. The experiments took place in greenhouses. These were fumigated with autoshreds once a week. All plants grew up in sterilized pots with sterilized soil. In all manipulations of pressing out the juice, filtering the juice, inoculating the plants, etc. only sterilized instruments were used.

a. Method of obtaining the juice.

The potato tubers were washed, cut in small pieces and ground in a mortar. In this way the juice is mixed with a large quantity of starch, but that does not influence the infection.

The leaves were put together in a piece of cotton gauze and pressed out in a mortar. The juice was used immediately or passed through filter paper beforehand.

b. Method of inoculation.

The tuber-juice was rubbed over the surface of the leaves by means of a plug of cottonwool, tied up at the top of a little stick. During this manipulation the lamina was supported by a petridish-cover. In the first experiments some of the inoculations were preceded by wounding the leaves with

needles, placed with their bases in a piece of cork. The infections with and without wounding had however the same results, so that in the following experiments the manipulation of wounding was omitted.

Concerning the leaf-juice this method of inoculation was corrected afterwards. By means of a platinum-loop a definite quantity of juice was transferred to the leaf and rubbed over the surface with a little stick of glass, bended rectangularly at the top. The advantages of this method were, that

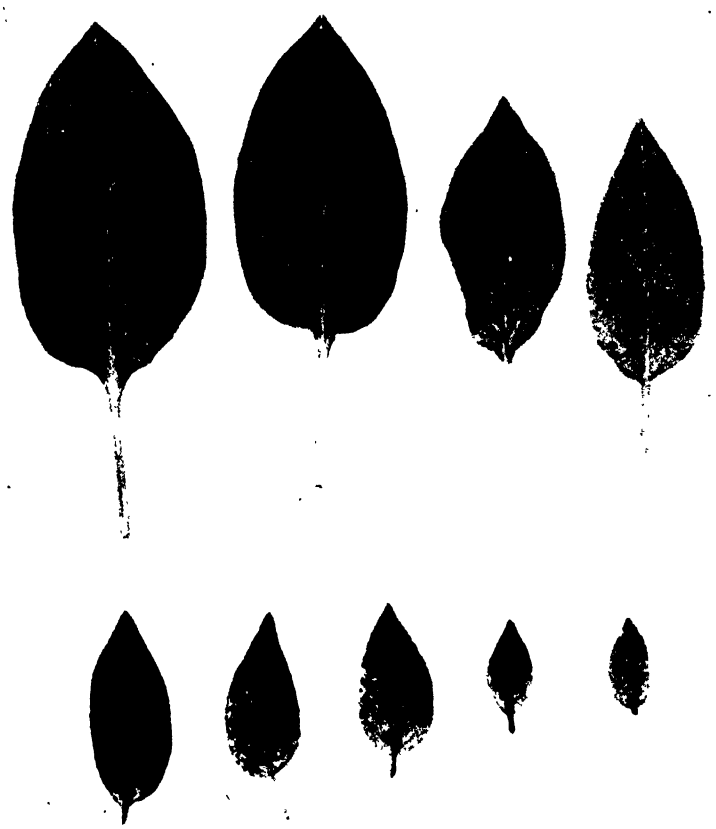


Fig. 1. Capsicum annuum L. (var. b) inoculated Nov. 10, 1930, with tuber-juice of "Green Mountain" on two basal leaves. 8th till 16th leaf with necrotic spots. Photographed Dec. 4, 1930.

each of the plants was inoculated with about the same quantity of juice and that it was possible to infect a great many plants with a relatively small quantity of juice, as this was not lost by penetrating into the cottonwool.

2. Infections on different plants.

The results of the inoculations on different hosts are mentioned in Table 1. Most infections occurred with the tuber-juice of "Green Mountain", only in the case of Solanum nodiflorum Jacq., in the second inoculation of Capsicum annuum L. var. b and of Physalis Alkekengi L. leaf-juice of "Green Mountain" was used.

In the last infection of Capsicum annuum L. var. a the juice of formerly infected Capsicum annuum L. var. a. functioned as inoculum. It was observed, that the plants of this experiment were somewhat more badly attacked than those infected immediately with tuber-juice of "Green Mountain".

Generally two of the basal leaves, beforehand marked by a thread around the petioles, were inoculated. Two methods of infection were used: 1. rubbing the juice over the surface of the leaves (w in Table 1). 2. puncturing the leaves with needles and rubbing the juice over the wounded leaves (p in Table 1). Both methods gave the same results, so that the first simplest method is preferable. The controls were treated in the same way with water. They all remained healthy except one tomato plant.

Fig. 2. Capsicum annuum L. (var. b) inoculated Nov. 10, 1930, with tuber-juice of "Green Mountain". At the right: control plant. At the left: infected plant. The petioles are bended at the place of the necrotic spots. Photographed Dec. 4, 1930.

Comparing the reactions of the different plants on the Green Mountain-virus four groups could be distinguished: 1. necrosis, 2. distinct mosaic, 3. mild mosaic, 4. no symptoms at all.

1. The two varieties of Capsicum annuum L. developed symptoms of necrosis. About 2—3 weeks after infection the leaves at the top became wrinkled and somewhat mosaic by clearing of the veins. Rather soon necrotic spots appeared on the laminae, the petioles and the stem. In variety b the leafspots were much more developed than in variety a. Figure 1 shows nine successive leaves of variety b. Beginning with the lowest inserted ones, the symptoms were as follows: some spots at the base, an increased number of spots at the base, a large number of spots over the whole leaf, only spots at the top of the leaf. Generally the oldest leaves did not show any symptoms of disease. However those of variety b produced 1—2 months after infection necrotic spots as well on the laminae as on the petioles and besides a characteristic necrosis along the veins.

Very often the petioles bended at the point of the necrotic spots. In such cases the laminae wilted, dried up and dropped or remained hanging quite droughty (Fig. 2).

Table 1. Infections on different plants.

Infected plants	Date of infection	Method	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period	Symptoms of disease
Capsicum annuum L. var. a[1])	Oct. 22	w[3])	6	6	16 days	Necrosis
	,, 22	p[4])	7	6	16—21 ,,	
	Dec. 2	w	7	7	20 ,,	
	,, 2	w	7	6	20 ,,	
Capsicum annuum L. var. b[2])	Nov. 10	w	15	11	21—22 ,,	
	June 8	w	10	9	12—14 ,,	
Datura Stramonium L.	Nov. 10	w	7	7	9—11 ,,	Distinct mosaic
	May 5	w	8	7	6— 8 ,,	
Tomato	Oct. 22	w	9	9	17—21 ,,	
	,, 22	p	9	8	17 ,,	
Tobacco	,, 22	w	9	9	17 ,,	
	,, 22	p	9	9	17—21 ,,	
Hyoscyamus niger L.	Febr. 20	w	5	5	± 19 ,,	
Physalis Alkekengi L.	May 13	w + p	5	4	1 month	Mild mosaic
	June 2	w + p	5	4	24 days	
Solanum nodiflorum Jacq.	,, 8	w	10	10	12—14 days	
Atropa Belladonna L.	Dec. 11	w	10	0	—	No symptoms
	Febr. 20	w	9	0	—	
	,, 20	p	9	0	—	
Solanum Dulcamara L.	April 23	w	4	0	—	
	May 13	w + p	5	0	—	
Solanum Capsicastrum L.	April 23	w	9	0	—	
Cyphomandra betacea Sendtn.	,, 23	w	9	0	—	
	May 13	w + p	4	0	—	

[1]) Capsicum annuum L. var. a = a variety with small fruits.
[2]) Capsicum annuum L. var. b = a variety with large fruits.
[3]) w = rubbing the juice over the surface of the leaves.
[4]) p = puncturing the leaves with needles and rubbing the juice over the wounded leaves.

On the stem and lateral shoots of var. a many necrotic streaks appeared (Fig. 3), whereas the stem of var. b showed only here and there necrosis.

The plants were stunted, but not killed by the disease. New shoots developed, the leaves of which remained small, were distorted, had light-green and necrotic areas and mostly fell off rather soon. Sometimes the top of a plant of var. b died. This symptom reminded one of a disease of the potato variety "Paul Kruger", called by Quanjer and Oortwijn Botjes (13) topnecrosis or acronecrosis, which developed after grafting "Paul Kruger" with "Green Mountain". This disease was already described by Schultz (17) in 1925.

Microscopical sections of the necrotic spots on stem, petioles and veins

of Capsicum annuum showed, that either the epidermal cells or the colienchymatous and parenchymatous cells too were necrotic and collapsed. Sometimes wound-tissue had developed around. This necrosis often extended over a greater distance in the parenchym than in the epidermis. Above the areas of collapsed cells, amidst healthy parenchymatous tissue, the epidermis was sunken.

Blodgett (3) inoculated in 1927 pepper plants with "Green Mountain" and other apparently healthy potato varieties. He observed about the same macroscopical symptoms as above mentioned.

Fig. 3. Capsicum annuum L. (var. a) inoculated Oct. 22, 1930, with tuber-juice of "Green Mountain". Stem and lateral shoot with necrotic streaks. Photographed Nov. 13, 1930.

2. The infections of Datura Stramonium L., tomato, tobacco, and Hyoscyamus niger L. resulted in a distinct mosaic.

The first symptom of disease was clearing of the veins. Figs. 4 and 7 show, that all the small veins are visible as a light coloured net-work on a darkgreen field.

The second symptom, shown by the younger leaves, was veinbanding. Darkgreen bands were observed along the larger veins, whereas the rest of the leaf had a lighter colour (Figs. 4, 5, 8 and 9). Sometimes the leaves of Datura Stramonium had besides very small necrotic spots.

The still younger leaves of Datura, tomato and Hyoscyamus developed afterwards as third symptom irregular yellow areas (Fig. 5), which were sometimes necrotic on the tomato leaves.

Fernow (4) had positive results in 1925 with inoculating Datura Stramonium L. with apparently healthy "Green Mountain". He called the observed symptom of disease mosaic B. According to his description and figure mosaic B agrees with the above-mentioned third symptom of irregular yellow areas.

Quanjer and Oortwijn Botjes (13) stated, that tomato, grafted with "Green Mountain", developed necrotic spots on leaves and stems. In author's experiments necrosis on the stems of tomato was never noticed.

Tobacco produced as third symptom a very characteristic ringspot

(Fig. 10). Here and there the tissue was lightgreen in colour in the form of a ring around a darkgreen centre. Generally the first symptom, clearing of the veins, was not very well developed on tobacco leaves, sometimes it was attended with necrotic spots.

Blodgett (3) had in 1927 positive results by inoculating tobacco with "Green Mountain" and other apparently healthy potato varieties. He mentions, that the symptoms on tobacco seemed to be of Johnson's "mottle" type (see paragraph 5).

A kind of ringspot was also observed on Datura Stramonium (Fig. 6), though the yellow areas were the most striking symptom. The lightgreen rings became sometimes necrotic.

Tomato and tobacco did not suffer much from the disease, the infected Datura Stramonium and Hyoscyamus niger however were stunted.

3. Physalis Alkekengi L. and Solanum nodiflorum Jacq. showed after infection only a mild mosaic. There was no question about any damage by the disease.

4. After inoculating Atropa Belladonna L., Solanum Dulcamara L., Solanum Capsicastrum L. and Cyphomandra betacea Sendtn. no symptoms at all appeared.

Fig. 4. Datura Stramonium L. inoculated Nov. 10, 1930, with tuber-juice of "Green Mountain". Young leaf showing clearing of the veins towards the top and veinbanding at the base. Photographed Nov. 26, 1930.

Evidently Solanum Dulcamara L. is not very susceptible to virus diseases. Fernow's (4) inoculations learned, that this host did not react on eight mosaics, used in his experiments.

Johnson (8) mentions: "Belladonna, Solanum dulcamara and Lycium seem to be the most 'resistant' to virus diseases of all solanaceous plants tried in the experiments."

Schaffnit and Müller (16) had negative results by inoculating Solanum Capsicastrum, Solanum Dulcamara and Atropa Belladonna with 4 different viruses.

From the results of the infections may be concluded, that the Green

Mountain-virus can cause quite different symptoms depending from the host and from the stage of development of the leaves. Already Quanjer and Oortwijn Botjes (13) noticed, that the Dutch potato varieties "Paul Kruger", "Bravo", "Roode Star", "Bevelander" showed topnecrosis after grafting with "Green Mountain", whereas the Dutch variety "Zeeland Blue" developed symptoms of mosaic and "Eigenheimer" did not produce any symptoms of disease.

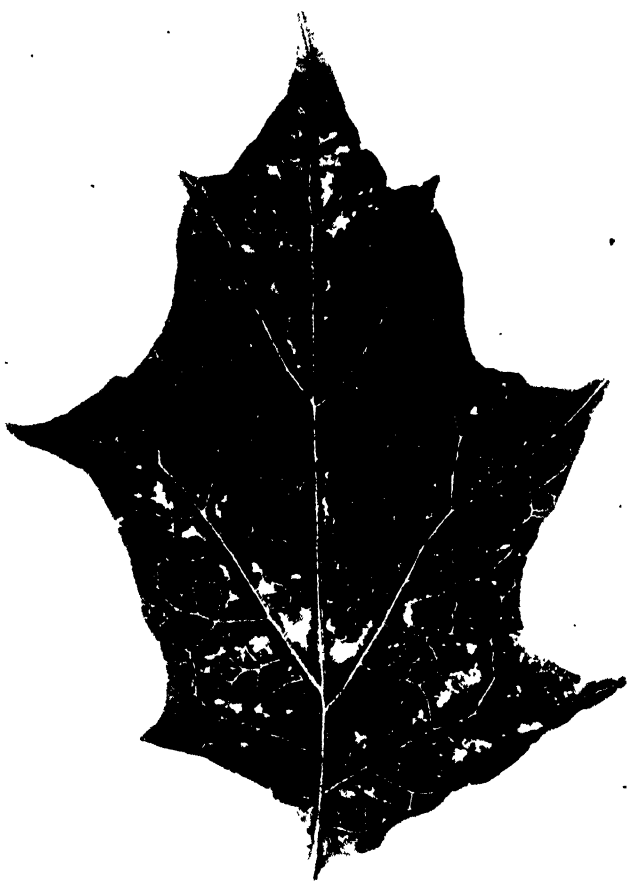


Fig. 5. Datura Stramonium L. inoculated Nov. 10, 1930, with tuber-juice of "Green Mountain". Leaf showing veinbanding at the top. Photographed Dec. 9, 1930.

3. Symptoms on Datura Stramonium L., tobacco and tomato.

In order to study the succession of the different symptoms on Datura Stramonium L. and tobacco more in details, the leaves were numbered by means of small labels and the symptoms of each leaf were noticed or drawn, so that every change could be observed each day. In this way two infected Datura- and tobacco-plants were studied. Besides the reaction of several tomato- and tobacco-plants was figured in such a way,

that the different symptoms of the successive leaves were indicated by different colours.

Generally when the leaves under and above the basal infected ones, were too old to react on the virus, they remained normal.

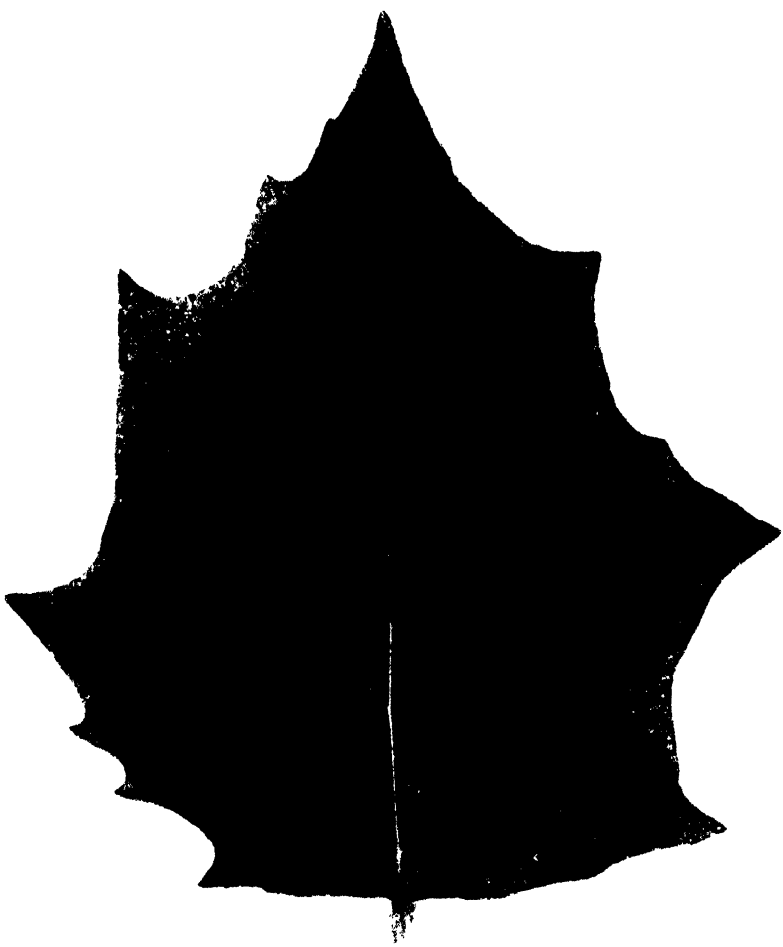


Fig. 6. Datura Stramonium L. inoculated July 25, 1931, with leaf-juice of formerly infected Datura Stramonium L. Leaf showing at the top clearing of the veins, somewhat lower, veinbanding and towards the base a kind of ringspot. Photographed Aug. 12, 1931.

As to Datura and tomato the oldest reacting leaves showed clearing of the veins, the younger ones veinbanding and the still younger ones irregular yellow areas. The symptoms developed towards the base of the respectively older and towards the top of the resp. younger leaves. So the successive developing leaves of Datura Stramonium were characterized by:

clearing of the veins at the base and normal tissue at the top, veinbanding at the base, clearing of the veins in the middle and normal tissue at the top (Fig. 4),

yellow areas at the base, veinbanding in the middle and clearing of the veins at the top,

yellow areas at the base and veinbanding at the top (Fig. 5),

yellow areas over the whole leaf.

The different symptoms, once developed, remained unaltered.

When two or three symptoms occurred on one and the same leaf, the symptom at the base developed as the leaf increased in size. For instance a leaf with clearing of the veins at the base and normal tissue at the top showed two days later a small area of veinbanding at the base. The following example is still another illustration. A young leaf, showing veinbanding at the base and clearing of the veins at the top, had 5 days later green tissue at the base, veinbanding in the middle and clearing of the veins at the top. Again 5 days later yellow areas had developed in the green tissue at the base.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 7. Tomato inoculated Oct. 22, 1930, with tuber-juice of "Green Mountain". The basal leaflets of the leaf, infected on the apical leaflet, showed clearing of the veins. Photographed Nov. 20, 1930.

Fig. 8. Tomato inoculated Oct. 22, 1930, with tuber-juice of "Green Mountain". Leaflets showing veinbanding. Photographed Nov. 20, 1930.

The last example shows besides, that the third symptom is produced gradually. In the beginning the green tissue at the base seemed normal, after 5 days it was characterized by yellow spots. Still another example may illustrate this. A very young leaf, later only producing the third symptom, looked in the beginning normal, but when it had a length of 5 c. m.,

some yellow spots could be observed and the following two weeks these yellow areas increased in number and in size.

The microscopical observation of a Datura-leaf, showing clearing of the veins and veinbanding, taught, that the first symptom was characterized by transparent groups of cells here and there along the small veins and often near the angle of several veins. Towards the area of veinbanding those transparent spots increased in size till at last nearly all the cells were light-green in colour, so that the symptom of clearing of the veins disappeared. In the area of veinbanding the tissue along the larger veins was coloured darkgreen (Fig. 4).

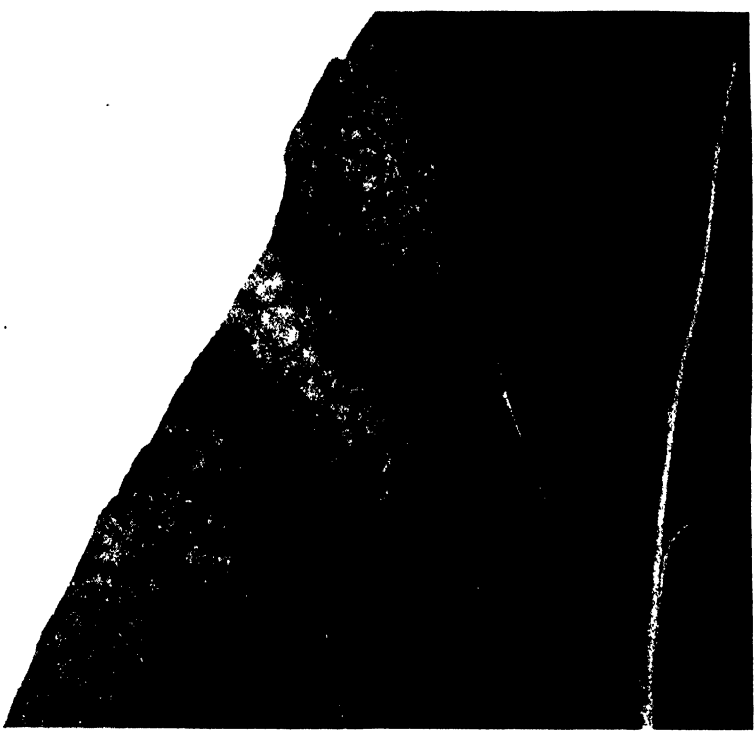


Fig. 9. Tobacco grafted Aug. 12, 1930, with a piece of Green Mountain-tuber. Leaf showing veinbanding. Photographed Sept. 24, 1930.

Concerning tomato the successive reacting leaves showed the same symptoms as Datura. However as the tomato leaf is compound, the division of the symptoms was somewhat more complicated. For instance a tomato plant had produced about 7 weeks after inoculation the following symptoms:

5th leaf: clearing of the veins on the first pair of pinnae and at the base of the second pair, normal tissue at the top of the second pair and on the three apical leaflets.

6th leaf: veinbanding at the base of first and second pair of pinnae, clearing of the veins at the top of first and second pair, on the third pair and at the base of the apical leaflet, normal tissue at the top of the apical leaflet.

7th leaf: yellow areas at the base of the first pair of pinnae, veinbanding at the top of the first pair, at the base of second and third pair and

at the base of the apical leaflet, clearing of the veins at the top of second and third pair of pinnae and at the top of the apical leaflet.

8th leaf: yellow areas at the base of first, second and third pair of pinnae, veinbanding at the top of first, second and third pair and at the base of the apical leaflet, clearing of the veins at the top of the apical leaflet.

9th leaf: yellow areas on the first, second and third pair of pinnae and at the base of the apical leaflet, veinbanding at the top of the apical leaflet.

10th leaf: yellow areas over the whole leaf.

Fig. 10. Tobacco inoculated Oct. 22, 1930 with tuber-juice of "Green Mountain". Leaf showing ringspot. Photographed Dec. 9, 1930.

In the case of tobacco the division of the symptoms was much simpler. Generally clearing of the veins was not very well developed. So the successive reacting leaves showed:

veinbanding at the base and normal tissue at the top,

veinbanding over the whole leaf (Fig. 9),

ringspot at the base and veinbanding at the top,

ringspot over the whole leaf (Fig. 10),

normal tissue at the base and ringspot at the top.

It was noticed, that ringspot always began at the top of the young leaves, developed from the top towards the base of the leaf till after 4—9 days the whole leaf showed ringspot. After about two months the symptoms of ringspot had become very vague.

Possibly the division of the different symptoms is due to the stade of development of the leafparts at the moment, that the virus begins its action on the tissue.

In order to study the conduction of water in diseased leaves of Datura Stramonium L. the following experiment was made. A healthy leaf and one with the symptom clearing of the veins were cut off and placed in water. By observing the laminae in transparent light with a magnifying glass, a definite area of both leaves was drawn in such a way, that the visible net-work of veins except the smaller ones were figured. A blue colour indicated the places, where clearing of the veins was observed. In the healthy leaf the tissue between the larger veins was equally green, but in the diseased one a net-work of smaller veins could be observed. In the last case transparent tissue was seen here and there along the veins, probably causing the symptom clearing of the veins.

Then the leaves were placed with their petioles in a solution of 0.1%

eosine in water. By making some tracings of the two drawings, the water-supply in the leaf-areas could be indicated at intervals with a red pencil.

Half an hour after the absorption of eosine the condition of the two leaf-areas was as follows. Concerning the healthy leaf the tissue between the larger veins was equally reddened. In the diseased leaf however the eosine-solution was not transported so regularly. The larger veins reddened only here and there. The places corresponding with those of clearing of the veins remained uncoloured. The smallest veins reddened gradually, but in those areas bordered by partly coloured veins the net-work of small veins did not get any eosine or the solution penetrated only in some of the nerves, so that these areas remained wholly or partly green. The coloured parts of the bounding veins were intensively red. The small necrotic leafspots were always observed in the neighbourhood of the uncoloured areas.

One day after the absorption of eosine the solution had penetrated in most of the veins of the diseased leaf. Still some areas and some veinparts were less coloured or uncoloured.

From the eosine-experiment may be concluded that the conduction of water in a diseased Datura Stramonium-leaf is slower and much more irregular than in a healthy one.

4. Experiments with the virus, using Datura Stramonium L. as indicator.

In paragraph 2 is shown, that Datura Stramonium L. is one of the hosts with a short period of reaction on the Green Mountain-virus and with distinct symptoms of disease. By these qualities Datura is a valuable indicator in experiments with the virus.

The plants were inoculated usually about a week after transplanting of the seedlings. It was very handy to infect the two cotyledons. The leaves of the young plants showed the first symptoms of disease, namely clearing of the veins, already after 5—6 days.

a. Are the different symptoms of disease caused by the same virus?

In these experiments each of the two basal leaves of good developed plants were inoculated with two platinum-loops of leaf-juice, originating from formerly infected Datura Stramonium.

The first group of plants kept all their leaves, from the other one all young leaves were removed, whereas in the third group all old leaves were cut off. The defoliation occurred, by tying off the leaves with a sterilized thin thread.

Table 2 (first part) hows, that in each group different symptoms of disease appeared. The untreated plants developed successively clearing of the veins, veinbanding and yellow areas. The plants without young leaves showed only a light discoloration of one of the leaves. The plants without old leaves were characterized by veinbanding and irregular yellow areas.

The controls, infected with healthy Datura-juice and defoliated in the same way, did not show any symptoms of disease.

By the described method of defoliation the various symptoms had been got separately in different plants. In order to study the question, if the different symptoms were caused by the same virus, inoculation experiments were made with the leaf-juice of each of the three groups of plants. In all

cases the common symptoms: clearing of the veins, veinbanding and yellow areas appeared successively (Table 2, second part)[1]). Thus the virus in leaves with different symptoms produced after transferring to healthy Datura-plants, the same disease.

Table 2. Experiments on Datura Stramonium L. in order to study, whether the different symptoms are caused by the same virus.

Date of 1st infection	Treatment of the plants	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period	Symptoms of disease
July 7	untreated	3	3	7 days	all symptoms
,, 7	all young leaves removed	3	2	7 ,,	3rd leaf: no symptoms 4th leaf: somewhat mosaic
,, 7	all old leaves removed	3	3	7 ,,	veinbanding and yellow-green areas

Date of 2nd infection	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period	Symptoms of disease
July 31	4	4	6—10 days	all symptoms
,, 31	4	4	6—10 ,,	,, ,,
,, 31	4	4	6—10 ,,	,, ,,
,, 31	4	4	6—10 ,,	,, ,,

We may conclude, that the different symptoms are caused by one and the same virus. Probably the reaction of the leaves on the virus depends on their stage of development.

b. Time of transmission from the infected leaf into the stem.

The plants were inoculated June 25 on the basal leaf with two platinum-loops of leaf-juice, originating from formerly infected Datura Stramonium. The infected leaf was tied off with a sterilized thread after 1, 2, 3 or 4 days.

Table 3 shows, that the virus needed at least 3 days to be transferred from the infected leaf to the stem.

All controls, treated in the same way with healthy Datura-juice, did not show any abnormality.

c. Influence of aging.

Table 4 shows the results of three experiments. In experiment 1 the leaf-juice of formerly infected Capsicum annuum L. var. a and

[1]) The second part of this table is a continuation of the first part.

in experiment 2 and 3 that of diseased Datura Stramonium L. was used. The juice, passed through filter paper, was put in sterile test tubes, which were corked and stored in the laboratory. Before the infection took place, the juice was shaken thoroughly. In experiment 1 the plants were inoculated on the basal leaf (June 8: two basal leaves). In experiment 2 and in the two last infections of experiment 3 two platinum-loops of juice were transferred to each of the two basal leaves, whereas in the two first infections of experiment 3 one loop of juice was used for each of the cotyledons.

Table 3. Experiments on Datura Stramonium L., in order to study the time of transmission of the virus from the infected leaf into the stem.

Infected leaf removed after	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period
1 day	4	0	—
2 days	4	0	—
3 days	4	4	6 days
4 days	4	4	6 ,,
not removed	4	4	6 ,,

Table 4. Experiments on Datura Stramonium L. in order to study the influence of aging of the virus.

No. of the experiment	Date of infection	Juice aged	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period
1	May 19	0 hours	5	5	8—13 days
	,, 19	1 hour	5	5	8—13 ,,
	,, 19	1 day	5	4	8—13 ,,
	June 1	2 weeks	5	1	14 ,,
	,, 8	3 ,,	5	0	
2	,, 25	0 hours	5	5	6 ,,
	,, 25	2 days	5	5	6 ,,
	,, 27	4 ,,	5	4	9—11 ,,
	,, 29	6 ,,	5	0	
3	July 15	0 hours	4	4	7 ,,
	,, 15	8 days	8	8	7—10 ,,
	,, 25	18 ,,	8	4	9—18 ,,
	,, 25	0 hours	4	4	5 ,,

As the juice itself was not sterile, the aging-experiments were rather rough. No wonder that the results of the different experiments were not quite conform (Table 4). We may however conclude, that juice, 4 days old or longer, involves a lengthening of the period of incubation. Juice, 8 days old, caused still 100% diseased plants, whereas juice of 18 days produced only 50% disease.

The controls, treated with aged juice of corresponding healthy plants, all remained normal.

So the Green Mountain-virus has a longevity in vitro of about three weeks. By this property of keeping its virulence outside the living plant during a long period it is possible, to use this virus for experiments.

d. Influence of temperature.

The results of three experiments are mentioned in Table 5. In experiment 1 the leaf-juice of formerly infected Capsicum annuum L. var. a, in experiment 2 and 3 that of diseased Datura Stramonium L. was used, whereas corresponding healthy plants furnished the control-juice. Before heating the juice was passed through filter paper.

In all experiments the method of heating the juice, described by Mc Kinney (10), was principally followed.

1 c. c. of juice was put in a piece of glass tubing (7 m. m. in diameter inside and 45 m. m. long), closed at both ends by means of a small, tightly fitting cork. The tubes were placed in an apparatus of copper as is figured in Fig. 11. Mc Kinney (10) used instead of this a wire tray. The screw at point a (Fig. 11) made it possible to press 4 glass tubes carefully, so that they could be heated together in a large vessel with water of about constant temperature. One of the tubes contained 1 c. c. diseased juice, another 1 c. c. healthy juice, the third one 1 c. c. water, whereas the fourth one was empty. The stopper of the tube containing water and also the beam of copper, bearing this tube, were bored, so that a thermometer could be put in.

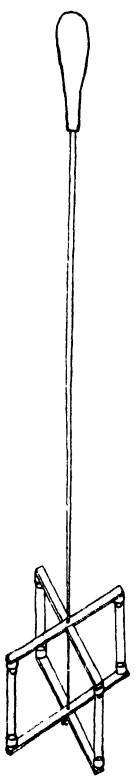


Fig. 11. Apparatus used for heating the juice.

A large quantity of water was heated in a Week boiler upon a gas flame. By regulating the flame the temperature of the water could be hold about constant during some time. The apparatus with tubes was immersed and moved carefully. It was noted, at what time the thermometer in the tube with water, indicated the desired temperature. Exactly ten minutes later the apparatus was removed at once and plunged into cold water immediately.

After the cooling, Datura-plants were inoculated with the heated juice, which was shaken beforehand thoroughly. In experiment 1 and 2 the plants were infected on the two basal leaves, in experiment 3 on the two cotyledons. The leaves in experiment 2 received each two platinum-loops of juice, the cotyledons each only one.

As Table 5 shows, there was no difference between the action of the unheated juice and the juice heated during 10 min. at 65° C. At the temperature of 70° C. the virus was for the greater part inactivated. However some of the infected plants (1 of 4 and 1 of 8) showed still the symptoms of disease some days later than those inoculated with unheated juice. An exposure of the juice during 10 min. to 75° however inactivated the virus. By using more than 8 plants it might be, that still one of them would become diseased. Anyhow the lethal temperature will be about 75° C.

The control plants, inoculated with heated healthy juice, did not show any symptoms of disease.

From the fact, that only 1 of 4 and 1 of 8 plants diseased after inoculation with at 70° C. heated juice, may be concluded, that the virus is neither liquid nor dissolved, but that it is of corpuscular nature. Concerning the virus of mosaic tobacco Beijerinck (2) introduced the name contagium vivum fluidum, but Iwanowski (6), repeating Beijerinck's

experiments, came to the conclusion, that the virus is of corpuscular nature and can be named a contagium fixum. According to Iwanowski the particles in the virus are probably organisms. Also the activity of the Green Mountain-virus will probably be due to organisms.

Table 5. Experiments on Datura Stramonium L. in order to study the influence of temperature on the virus.

No. of the experiment	Date of infection	Juice heated during 10 min. at ° C.	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period days
1	June 3	unheated	5	4	12
	,, 3	50	5	4	12
	,, 3	70	5	0	—
2	July 2	unheated	4	4	8
	,, 2	30	4	4	8
	,, 2	40	4	4	8
	,, 2	50	4	4	8
	,, 2	60	4	4	8
	,, 2	70	4	1	12
3	Aug. 18	unheated	8	8	6
	,, 18	65	8	8	6
	,, 18	70	8	1	7
	,, 18	75	8	0	—

e. Influence of dilution.

In the 1st experiment leaf-juice of the potato variety "Green Mountain" was used, in the 2nd and 3rd experiment, leaf-juice of previously infected Datura Stramonium L. The juice was passed through filter paper and diluted with distilled water. In experiment 2 each of the two basal leaves received 3 platinum-loops of juice, whereas in experiment 3 one loop of juice was transferred to each of the two cotyledons.

Table 6. Experiments on Datura Stramonium L. in order to study the influence of dilution of the virus.

No. of the experiment	Date of infection	Dilution of the juice	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period days
1	June 10	0	5	5	5—6
	,, 10	10	5	5	5
	,, 10	100	5	5	6—7
	,, 10	1 000	5	4	7—12
2	July 27	0	4	4	7
	,, 27	10 000	4	4	7—10
	,, 27	100 000	4	1	14
3	Aug. 17	0	8	8	7
	,, 17	100 000	8	0	—
	,, 17	1 000 000	8	0	—
	,, 17	1 000 000 000	8	0	—

Table 6 shows, that dilution of the juice lengthens the period of incubation. This is already noticeable after a dilution of 1 : 100. A dilution

of 1 : 10 000 resulted still in 100% diseased plants, but by diluting 1 : 100 000 only 1 of 4 plants in experiment 2 showed the symptoms of disease. In the last case the period of incubation was doubled. When the juice was diluted 1 : 1 000 000, it did not act at all.

The controls treated with water remained healthy.

That only 1 of the 4 plants became diseased after being inoculated with 100 000 diluted juice, is a fact, from which again may be concluded, that the virus is of corpuscular nature.

The results of Allard's (1) dilution experiments with the virus of the mosaic disease of tobacco were as follows: "The virus of the mosaic disease when diluted to 1 part in 1000 of water is quite as effective in producing infection as the original undiluted virus. Attenuation of the virus is indicated in dilutions of 1 part in 10 000 of water. At greater dilutions infection is not likely to occur." Allard concluded: "Although enzymic activities have been considered responsible for the mosaic disease of tobacco, parasitism, in the writer's opinion, offers by far the simplest and most reasonable explanation of its origin.

According to Stahel (18) the fact, that the percentage of successful infections with tobacco mosaic juice, diluted 1 : 10 000, has the same period of incubation as using undiluted juice, proves more for the presence of an organism than for that of an enzym. However author's experiments with the Green Mountain-virus learned, that dilution of the juice lengthens the period of incubation. Stahel continues, that in dilutions of 1 : 20 000, 1 : 50 000, etc. the eventual enzym would be anyhow too less concentrated as being able to cause the symptoms of disease, but if the contagium is of organic nature, it may be expected, that still a small percentage of the infections succeeds and that the period of incubation does not differ from that of infections with undiluted juice.

In 1927 McKinney (11) mentioned the following results from the dilution experiments with the virus of tobacco mosaic:

dilution	+	5 000	100% mosaic,
,,	+	10 000	80% ,,
,,	±	20 000	60% ,,
,,	±	40 000	40% ,,
,,	±	100 000	20% ,,

Author's experiments showed, that by inoculating Datura Stramonium L. with 1 to 100 000 diluted Green Mountain juice, 1 of 12 plants became diseased after a twice as long a period of incubation as in the infections with undiluted juice.

f. Influence of alcohol.

The leaves of previously infected Datura Stramonium L. were pressed out. The juice was passed through filter paper and mixed with different quantities of alcohol 96% in such a way, that the inoculum contained 0%, 32%, 50% or 64 % alcohol. The plants were inoculated August 19 on each of the cotyledons with one platinum-loop of juice.

The controls were infected with healthy juice of Datura, containing an equal percentage of alcohol.

The results of the experiments are shown in Table 7. The virus did not suffer from 50% alcohol, but was inactivated by 64% alcohol.

The controls remained healthy.

Table 7. Experiments on Datura Stramonium L. in order to study the influence of alcohol on the virus.

Percentage of alcohol %	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period days
0	4	4	6
32	4	4	5
50	4	4	7—8
64	4	0	—

5. Comparison between the Green Mountain-virus and the different viruses described by Johnson.

Johnson (7) inoculated in 1925, tobacco with the juice of the apparently healthy potato-variety "Triumph" and some other ones. According to Johnson the diseases produced on tobacco were characteristically of three types: "mottle", "spot-necrosis" and "ring-spot", the two former possibly being different expressions of the same disease. The spot-necrosis form could be transmitted back to the potato, where it caused a virulent disease, the "mottle" and "ring-spot" forms apparently produced no symptoms on potato.

Classifying the viruses, Johnson (8) distinguished tobacco virus 4, causing spot-necrosis, and tobacco virus 5, causing ring-spot. The classification was based on the study of several properties of the different viruses. In consequence of Johnson's investigations the Green Mountain-virus was studied in the same way. Comparing the properties of the Green Mountain-virus with those of the viruses, described by Johnson, the Green Mountain-virus agrees mostly with tobacco virus 4 and 5.

Concerning the symptoms on different hosts Johnson mentioned for tobacco virus 4 on Capsicum annuum, tomato and Hyoscyamus niger a mild form of mottling and a mild form of necrosis, for tobacco virus 5 on these three plants a mild form of necrosis, for tobacco virus 4 on tobacco mild mottling and necrotic spots, for tobacco virus 5 on tobacco mottling and ring-like spots.

In author's experiments Capsicum annuum developed a bad necrosis, tomato and Hyoscyamus niger clearing of the veins, veinbanding and yellow areas, which were sometimes necrotic on the leaves of tomato. Tobacco produced clearing of the veins, veinbanding and ringspot. Necrosis was not distinctly developed. According to the figures of a tobacco-leaf with "mottling" (7 and 9) this symptom seems to agree with that of "veinbanding".

Thus the Green Mountain-virus differs from tobacco virus 4 and 5 in the reaction on Capsicum annuum and agrees with tobacco virus 5 in the reaction on tobacco.

As to the influence of aging, temperature, dilution and alcohol both tobacco viruses behaved the same (8). Their resistance to aging in vitro was about 14 days, whereas the Green Mountain-virus had a longevity in vitro of at least 18 days. The lethal temperature of both tobacco viruses was 70° C. after heating the juice during 10 min. The Green Mountain-virus was inactivated by exposing the juice to 75° C. during 10 min. The tobacco viruses were killed in one hour by 50% alcohol. The Green Mountain-virus

was inactivated by 64% alcohol. Johnson (7) mentioned in 1925, that the "mottle" and "spot necrosis" type still yielded good infection after dilution of the juice up to one to five thousand, but that further dilution could no doubt be tolerated. He stated in 1929: "The mottle form of the virus from apparently healthy potatoes, taken from tobacco and transferred to tobacco, will stand a dilution of at least 1 to 10 000." The Green Mountain-virus was still active at a dilution of 1 to 10 000.

It may be concluded, that the results of the experiments with the tobacco viruses 4 and 5 by Johnson and those with the Green Mountain-virus by the author do not differ very much.

According to Johnson (9) the investigations with several virus diseases of potato taught, that the spot-necrosis virus is identical with the rugose mosaic virus mentioned by Schultz and Folsom. He stated: "As far as is known at present, spot necrosis can never be secured separate from the mottle virus, although the mottle form may presumably exist separately from spot necrosis. There is some reason, therefore, for the assumption that we are dealing with two viruses in this case."

Concerning ring-spot Johnson (7) mentioned: "While it has not yet been definitely proven, it is possible that the 'ring-spot' disease of tobacco as it occurs in nature is identical with the 'ring-spot' disease secured from potatoes on tobacco under experimental conditions." However Fromme, Wingard and Priode (5) stated, that Johnson's figure of a diseased tobacco leaf undoubtedly shows definite rings, but that their identity with those of the disease, described by the authors seems questionable.

The symptoms of the ringspot disease, described and figured by Fromme e. a., do not coincide with those, observed on tobacco as third symptom after inoculation with Green Mountain-juice.

Whereas Johnson came to the conclusion, that apparently healthy potatoes are carriers of two or three viruses, author's experiments taught, that the potato variety Green Mountain is carrier of one virus, which may cause three different symptoms of disease (see paragraph 4a).

The Green Mountain-virus agrees in many respects with Johnson's tobacco virus 5. However Johnson (7) mentioned about the "ring-spot" virus, that it "apparently shows no typical symptoms on such hosts as tomato or pepper, only mottling or general necrosis occurring". In author's experiments Capsicum annuum produced a distinct necrosis and was badly attacked, whereas tomato developed symptoms of mosaic and some small necrotic spots without suffering much from the disease. So finally we must conclude, that the Green Mountain-virus cannot be identified with one of the viruses, described by Johnson.

6. Infections on Datura Stramonium L. with other carriers than "Green Mountain".

The experiments were made with the leaf-juice of those potato varieties from which tuber-inoculations on "Paul Kruger" and on "Arran Victory" had already shown in the fields, that they surely or possibly were carriers of the same virus as "Green Mountain" contains. The leaves of every variety were pressed out in a separate mortar, so that mixing of juices was impossible. The Datura plants were inoculated on July 20 with one platinum-loop of juice on each of the cotyledons and two loops on the basal leaf.

The results, mentioned in Table 8, were striking. After 7—9 days symptoms of disease appeared in all Datura plants, inoculated with "Green Mountain", "Maagdenburger Blauwe", "Witch Hill", "Irish Cobbler", "Fransche", "Rural", "Kerr's Pink", "Pruisen", "Eersteling", "Direktor Johansen" and "Jubel". However Datura infected with the juice of "Juli", "Arran Comrade", "Geeltjes" and "Paul Kruger" (inoculated with "Schijndelsche Grofroode") behaved as the controls treated with water; they all remained healthy.

Whereas in the last four cases the tuber-inoculations had given doubtful results, the use of the indicator Datura Stramonium L. solved the question. The last-mentioned potato variety "Paul Kruger" was diseased by tuber inoculation with the Dutch variety "Schijndelsche Grofroode". It was doubtful, if "Paul Kruger" had the symptoms of acronecrosis or of acropetal necrosis. On using Datura Stramonium as indicator, it was determined, that "Schijndelsche Grofroode" does not contain the virus of acronecrosis. Thus "Schijndelsche Grofroode" is a carrier of the virus of acropetal necrosis.

As to the infections with positive results a difference in strength of reaction of the Datura plants could be observed. "Green Mountain" and "Maagdenburger Blauwe" caused very distinct symptoms of disease. The successive potato varieties as they are mentioned in Table 8 developed less pronounced symptoms. So "Eersteling" was characterized by veinbanding, whereas the very small necrotic leafspots were as good as absent. "Jubel" showed only a mild mosaic and yellow leafspots.

Johnson (7) inoculated tobacco with the juice of several apparently healthy potato varieties, inter alia "Triumph", "Green Mountain", "Irish Cobbler", "Rural New Yorker". His infections taught, that some varieties seemed to give a higher percentage of infection than others and that the Rural variety was distinctly different from the other varieties studied.

Quanjer and Oortwijn Botjes (13) mention, that their grafting-experiments with "Green Mountain" and "Eersteling" on different potato varieties produced the same symptoms on the foliage and in the interior of the tubers, but concerning the exterior of the tubers some difference in reaction was noticed.

The results of Johnson's experiments on tobacco, those of Quanjer's graftings on potato and those of author's infections on Datura Stramonium lead to the conclusion, that the viruses of the carriers "Green Mountain", "Irish Cobbler", "Rural" and "Eersteling" undoubtfully belong to the same type, but that they are distinguished by small differences. If organisms are the active element in the virus, we might suppose, that both carriers contain related organisms, belonging to the same genus, but to different species or to the same species, but to different varieties.

The infections on Datura can be criticized as they are made rather late in the season, so that the very early variety "Eersteling" was not in the same stage of development as the later variety "Green Mountain". Anyhow prolonged experiments in this direction are necessary for a comparative study of those potato-viruses, which cause symptoms of acronecrosis on "Paul Kruger".

According to Fernow (4) Datura Stramonium L. is subject to mosaic B and C. Mosaic B appeared after inoculation with apparently healthy "Green Mountain". In my experiments these infections resulted

in the successive symptoms: clearing of the veins, veinbanding and irregular yellow areas on the leaves. The description and corresponding figure of mosaic B on Datura Stramonium agree with the third of the mentioned symptoms. Datura Stramonium plants with mosaic C were sent to Fernow from Long Island.

Salaman (14) observed typical symptoms of disease on Datura Stramonium after grafting with crinkle "A" from potato.

Salaman and Le Pelley (15), experimenting with para-crinkle of potato, transferred the disease to Datura Stramonium by grafting.

Schaffnit and Müller (16) mention, that Datura Stramonium shows a positive reaction on the "Fleckmosaik", "Kräuselmosaik" and "Strichelnekrose" virus of potato.

Thus Datura Stramonium can react still on other viruses than that of apparently healthy potatoes. Therefore it will be necessary, to inoculate Datura with all kinds of potato-viruses just in the same way as is stated in this paragraph. An exact study of the obtained symptoms of disease will determine the usefulness of Datura Stramonium as indicator for the Green Mountain- and related-viruses and eventually other viruses.

Table 8. Experiments on Datura Stramonium L. with the juice of other carriers than "Green Mountain".

Leaf-juice of the potato varieties	Number of infected plants	Number of diseased plants	Incubation period days
Green Mountain	4	4	7—9
Maagdenburger Blauwe	4	4	7—9
Witch Hill	4	4	9
Irish Cobbler	4	4	7—9
Fransche	4	4	7—9
Rural	4	4	7—9
Kerr's Pink	4	4	9
Pruisen	4	4	9
Eersteling	4	4	9
Direktor Johansen	4	4	7—9
Jubel	4	4	9
Juli	4	0	—
Arran Comrade	4	0	—
Geeltjes	4	0	—
Paul Kruger (inoculated with Schijndelsche Grofroode)	4	0	—

Summary.

The apparently healthy potato variety "Green Mountain" is carrier of a virus, that produces different symptoms of disease depending on the host and the stage of development of the leaves.

After inoculation with the juice of Green Mountain-tubers or leaves, two varieties of Capsicum annuum L. reacted by necrosis, Datura Stramonium L., tomato, tobacco and Hyoscyamus niger L. by distinct mosaic, Physalis Alkekengi L. and Solanum nodiflorum Jacq. by mild mosaic, whereas Atropa Bel-

ladonna L., Solanum Dulcamara L., Solanum Capsicastrum L. and Cyphomandra betacea Sendt. showed no symptoms at all.

The oldest reacting leaves of Datura Stramonium, tomato, tobacco and Hyoscyamus niger were characterized by clearing of the veins, the younger ones by veinbanding and the later developing leaves of Datura, tomato and Hyoscyamus by irregular yellow areas, of tobacco by ringspot. These symptoms were observed towards the base of the respectively older and towards the top of the respectively younger leaves. Once developed, they remained unaltered.

The conduction of water in a diseased Datura Stramonium-leaf is slower and much more irregular than in a healthy one.

As Datura Stramonium shows distinct symptoms of disease and has a short period of reaction, this plant is a good indicator in experiments with the Green Mountain-virus.

The different symptoms of disease, produced by Datura Stramonium, are caused by one and the same virus.

The virus needs at least three days to be transferred from the infected leaf to the stem.

The longevity in vitro of the virus is at least 18 days.

The virus is inactivated by heating the juice during 10 min. at 75° C.

Dilution of the juice lengthens the period of incubation, already being noticeable after a dilution of 1 to 100. The virus diluted 1 to 10 000 was as active as undiluted juice, but by diluting the virus 1 to 100 000, only 1 of 12 plants showed symptoms of disease. In the last case the period of incubation was doubled. Juice diluted 1 to 1 000 000 did not act anymore.

The virus did not suffer from 50% alcohol, but was inactivated by 64% alcohol.

The Green Mountain-virus agrees in many respects with Johnson's tobacco virus 5, but it does not seem to be identical with it.

By inoculating Datura Stramonium with the juice of other apparently healthy potato varieties, which are according to tuber-inoculations on "Paul Kruger" carriers of the same virus as "Green Mountain" contains, the developed symptoms of disease are mostly of the same kind, but the reactions differ in strength. When such tuber-inoculations on "Paul Kruger" give doubtful results, the question can be solved by using Datura Stramonium as indicator. When it is difficult, to determine, if "Paul Kruger" develops acronecrosis or acropetal necrosis, infections on Datura Stramonium are decisive.

Literature[1]).

1. Allard, H. A., Effect of dilution upon the infectivity of the virus of the mosaic disease of tobacco. (Journ. Agr. Res. Vol. 3. 1915. p. 295—299.) — 2. Beijerinck, M. W., Über ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter. (Verh. K. Akad. Wet. Amsterdam. Sectie 2. Bd. 6. 1898.) — 3. Blodgett, F. M., A potato virus on peppers. (Phytopathology. Vol. 17. 1927. p. 775—782.) — 4. Fernow, K. H., Interspecific transmission of mosaic diseases of plants. (Cornell Agr. Exp. Stat. Mem. 96. 1925.) — 5. Fromme, F. D., Wingard, S. A., and Priode, C. N., Ringspot of tobacco, an infectious disease of unknown cause. (Phytopathology. Vol. 17. 1927. p. 321—328.) — 6. Iwanowski, D., Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. (Ztschr. Pflanzenkrankh.

[1]) Closed January 1932.

Bd. 13. 1903. S. 1—41.) — 7. Johnson, J., Transmission of viruses from apparently healthy potatoes. (Wisconsin Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 63. 1925.) — 8. Johnson, J., The classification of plant viruses. (Wisconsin Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 76. 1927.) — 9. Johnson, J., The classification of certain virus diseases of the potato. (Wisconsin Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 87. 1929.) — 10. McKinney, H. H., Factors affecting certain properties of a mosaic virus. (Journ. Agr. Res. Vol. 35. 1927. p. 1—12.) — 11. McKinney, H. H., Quantitative and purification methods in virus studies. (Journ. Agr. Res. Vol. 35. 1927. p. 13—38.) — 12. Quanjer, H. M., The methods of classification of plant viruses, and an attempt to classify and name potato viroses. (Phytopathology. Vol. 21. 1931. p. 577—613.) — 13. Quanjer, H. M., en Oortwijn Botjes, J. G., Aardappelziekten van het „stippelstreep" en „topnecrose"-type en het vraagstuk der latentie en physiologische specialisatie. (Med. Landbouwh. Vol. 33. 1929.) — 14. Salaman, R. N., Crinkle "A", an infectious disease of the potato. (Proc. R. Soc. B. Vol. 106. 1930. p. 50—83.) — 15. Salaman, R. N., and Le Polley, R. H., Para-crinkle: a potato disease of the virus group. (Proc. R. Soc. B. Vol. 106. 1930. p. 140—175.) — 16. Schaffnit, E., und Müller, W., Wechselseitige Virusübertragungen innerhalb der Familie der Solanaceen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 3. 1931. S. 105—136.) — 17. Schultz, E. S., A potato necrosis resulting from crossinoculations between apparently healthy potatoes. (Science. N. S. Vol. 62. 1925. p. 571—572.) — 18. Stahel, G., De infectieproef in de phytopathologie. Wageningen 1921.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Glaubitz, M., Atlas der Gärungsorganismen. Berlin (Verlag Paul Parey) 1932. 82 S., m. 98 Abb. auf 36 Taf. Geb. 6,60 RM.

In richtiger Erkenntnis, daß in einem Bestimmungsbuch der Verwendung von Mikrophotogrammen gerade größerer Organismen wegen zu geringer Tiefenschärfe nicht unerhebliche Bedenken entgegenstehen, hat Verf. es vorgezogen, nur Originalzeichnungen zu bringen, die „den Vorteil eines überall gleichmäßig durchgearbeiteten Bildes" haben. Sämtlichen Abbildungen ist eine kurze textliche Erläuterung über Vorkommen, Bedeutung, morphologisches und physiologisches Verhalten usw. des betreffenden Mikroorganismus beigegeben.

Auf den ersten 11 Tafeln werden ausschließlich Hefen dargestellt. Verf. war sich bewußt, daß die Hefen ihre Gestalt je nach Alter und Umweltbedingungen wesentlich ändern können. Um dennoch zu verwertbaren Unterschieden bei den einzelnen Arten und Rassen zu kommen, wurden von ihm die letzteren nach genau angegebener einheitlicher Vorbehandlung und in bestimmtem Zustand in gleichem Maßstab gezeichnet. Dabei ist der Hinweis nicht vergessen, daß die sichere Bestimmung einer Hefe auf Grund des mikroskopischen Bildes allein im allgemeinen nicht durchführbar ist.

Den echten Hefen folgen hefeähnliche Organismen, wie Torula, Kahmhefen usw., dann Essig-, Milch- und Buttersäurebakterien, Sarcinen usw. und schließlich Penicillien, Aspergillen und Mucorineen.

Dem Verf. gebührt Anerkennung wegen des ausgezeichneten Bildmaterials und der guten Übersichtlichkeit in der Anordnung, dem Verlag wegen der prächtigen Ausstattung und des niedriggehaltenen Preises, der es nicht nur den Praktikern des Gärungsgewerbes, sondern auch jedem Biologie-Studierenden ermöglicht, den Atlas zu erwerben und daraus den vom Verf. erhofften Nutzen zu ziehen. Stapp.

Lengerken, H. v., Das Schädlingsbuch (für Gärtner, Gartenfreunde, Siedler . . . und verwandte Berufe, zur Erkennung und Bekämpfung tierischer Schädlinge). Berlin (Brehm-Verlag) 1932. 194 S., 88 Abb. Geb. 4,80 RM.

Die Aufgabe, sämtliche wichtigen Gartenschädlinge (mit Ausnahme derjenigen der Nadelhölzer) in einem mäßig starken Band zu behandeln, erforderte äußerste Konzentration des Textes und raumsparende Abbildungen. So entstand ein Buch, das zum Nachschlagen und zum Lernen geeignet ist, wobei die vorzüglichen Abbildungen (nur Originale) ein sehr wesentliches Hilfsmittel sind. Jeder Schädling ist mit einem deutschen Namen bezeichnet, daneben auch der lateinische angegeben, auf dessen durch die Schuld der Nur-Systematiker fraglich gewordenen praktischen Wert der Verf. mit Recht hinweist. Das Buch bringt nach einigen einleitenden Bemerkungen über „Schaden" und „Bekämpfung" Bestimmungstabellen der Beschädigungen, aus denen auf die Art der sie verursachenden Tiere geschlossen werden kann. Diese selbst folgen dann in systematischer Anordnung. Man darf erwarten, daß das Buch seine Bestimmung, ein Hilfsmittel des Gärtners zu sein, vorzüglich erfüllen wird. K. Friederichs.

Haselhoff, E., Grundzüge der Rauchschadenkunde. Anleitung zur Prüfung und Beurteilung der Einwirkung von Rauchabgängen auf Boden und Pflanzen. Berlin (Verlag Gebr. Borntträger). Mit 7 Abb. i. Text. Preis geh. 9.60, geb. 11 RM.

Der zu erwartenden Neuauflage des bekannten Werkes von Haselhoff und Lindau geht ein knapp gefaßtes Buch, enthaltend eine zusammenfassende Darstellung der Wirkung der Rauchabgänge auf Vegetation und Boden und der für die Rauchschadenbeurteilung wichtigen Forschungsergebnisse voraus.

Das einleitende Kapitel gibt einen Überblick über die Art und Zusammensetzung des durch Verbrennen von Holz-, Stein- und Braunkohle aus Heizfeuerungen und aus Röst-, Schmelz- und sonstigen Prozessen industrieller Betriebe entstehenden Rauches (gasförmige und feste Rauchabgänge). Danach werden die Wirkungen des Rauches und anderweitiger Ursachen, die ähnliche Veränderungen an den oberirdischen Organen der Pflanzen hervorrufen, auf das Pflanzenwachstum im allgemeinen unter Berücksichtigung der Standortsverhältnisse und der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der Kulturpflanzen behandelt. Es folgt ein Kapitel über die Wirkung der verschiedenartigen Rauchabgänge im besonderen, zunächst der weitaus im Vordergrund der Betrachtung stehenden schwefligen Säure und Schwefelsäure, dann der von Chlor und Salzsäure, von Fluorverbindungen, Stickstoffsäuren, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Teer- und Asphaltdämpfen, Leuchtgas und einzelnen seltener vorkommenden Stoffen. Anschließend wird die Schädlichkeit von Flugstaub auf Pflanzenwachstum und Tierkörper behandelt. Das nächste Hauptkapitel befaßt sich mit dem Nachweis der Rauchgase durch deren Feststellung in der Luft und in der Pflanze. Bei der Besprechung der Auswertung der von den Blättern rauchgeschädigter Pflanzen gewonnenen Untersuchungsergebnisse und deren Berechnung erfolgt eine längere, dahin endigende Auseinandersetzung mit Tiegs, daß die für die sandfreie Trockensubstanz berechneten Untersuchungsbefunde nach wie vor als geeignetste Grundlage für den Vergleich

geschädigter und nicht geschädigter Pflanzen angesehen werden müssen. Die von der Blattflächeneinheit als „unveränderlicher Größe" ausgehende Berechnung wird mit entsprechender Begründung abgelehnt. Es folgen dann noch einige allgemeine Ausführungen über Untersuchung und Beurteilung von Rauchschäden (Ortsbesichtigung, Probenahme, Abschätzung) und die Verhütung von Rauchschäden. Den Beschluß bildet ein von Amtsgerichtsrat Haselhoff verfaßter kurzer Abschnitt über die rechtliche Beurteilung von Rauchschäden, dem in dem später erscheinenden großen Werk eine ausführliche, dem Zweck des Buches entsprechende Abhandlung nachfolgen soll.

Das Buch zeichnet sich aus durch besonders klare Darstellung, übersichtliche Anordnung und Behandlung des Stoffes und sorgfältige (237 Nummern) aber nicht in die Breite gehende Berücksichtigung der Literatur. Es wird allen an Rauchschadenfragen interessierten Kreisen hochwillkommen sein und insbesondere dem Experten wertvolle Dienste leisten.

E. Schaffnit (Bonn).

Allgemeines und Methodisches.

Fehér, D., Eine neue Methode zur Züchtung und quantitativen Erfassung der Lebenstätigkeit der Bodenbakterien. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 362—369.)

Die geschilderte Methode ist gewissermaßen eine Kombination aller bisher angewendeten Methoden. Das Hauptprinzip dabei ist, daß das Verdünnungsverfahren benutzt, aber der zu untersuchende sterilisierte Boden selbst in Mischung mit sterilem Sand (1 : 1) als Kultursubstrat dient. Die Sterilisation wird nach dem Mischen vorgenommen (3mal hintereinander je 24 Std. bei 105° C). Das Substrat wird mit den sukzessiven Verdünnungen geimpft und später auf dem gewöhnlichen Wege der Plattenkultur bzw. unter Verwendung von Spezialnährböden auf Sterilität geprüft und so die Minimalkeimzahl ermittelt.

Parallel geht die unmittelbare mikroskopische Zählung der Mikroorganismen und die Diagnose der Arten. Ergebnisse, die mit dieser allerdings recht zeitraubenden Methode gewonnen wurden, werden noch nicht mitgeteilt.

Rippel (Göttingen).

Fuhrmann, F., Eine neue Plattengußvorrichtung. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 397—400.)

Die Vorrichtung besteht aus einer in einen Zinkblechkasten eingespannten Platte von Spiegelglas, die von unten zur raschen Abkühlung durch Spritzrohre berieselt wird. Der Vorteil gegenüber einer Metallplatte besteht in der leichteren Reinigungsmöglichkeit sowie darin, daß sie sich, im Gegensatz zur Metallplatte, nicht verzieht und verwölbt. Rippel (Göttingen).

Eisenberg, K. B., Die Sichtbarmachung von Innenstrukturen in Bakterien und anderen Mikroorganismen. II. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 401—408.)

Verf. hatte kürzlich eine Methode beschrieben, durch Einbetten in Medien von verschieden hohem Brechungsindex sonst nicht sichtbare Innenstrukturen bei Bakterien sichtbar zu machen. In der vorliegenden Arbeit wird ein anderer Weg beschritten: Es wird in den Dunkelfeldkondensor eine spaltenförmige Azimutblende eingeschaltet, wodurch die die Innen-

strukturen überstrahlende Zellmembran abgeblendet wird und jene sichtbar werden. Die Methode hat der erstgenannten gegenüber den Vorteil, daß das Objekt in natürlichem Zustand untersucht werden kann. Abbildungen zeigen die Brauchbarkeit der Methode. Rippel (Göttingen).

Pharmaceutische Werke „Norgine" A. G. und **Siegwart Hermann, Prag,** Herstellung von glukonsauren Salzen durch Gärung. (Oe. P. 127 373 vom 6. 11. 1930, ausg. 25. 3. 1932.)

Zur Herstellung von glukonsauren Salzen vergärt man entweder glukosehaltige Nährlösungen mit Hilfe von Bakterien, welche die CH(OH)-Gruppe nicht angreifen, z. B. B. acetosum, B. racens, B. vini aceti, B. ascendens in Gegenwart von Kationen, die mit Glukonsäure wasserlösliche Salze zu bilden vermögen (z. B. $CaCO_3$), oder man vergärt saccharosehaltige Nährlösungen mit Bakterien, welche die gleiche Eigenschaft besitzen und außerdem zur Spaltung der Saccharose geeignete Enzyme hervorbringen. An Stelle einzelner Arten kann auch die Pilzgenossenschaft „Kombucha" verwendet werden. Nährlösung z. B. Hefewasser mit 15% Traubenzucker und 3% $CaCO_3$. Gärdauer bei 30° 4—6 Wochen.
Bojanovsky (Aussig).

Ziegler, I., & Co., Verfahren und Anlage zur Herstellung von alkoholarmen bzw. alkoholfreien Getränken. (Oe. P. 128 840 vom 14. 7. 1931, ausg. 25. 6. 1932.)

Zur Gärung wird Thermobact. mobile oder andere ähnlich wirkende Organismen verwendet. Das Verfahren besteht darin, daß zunächst gut gelöstes, weit abgebautes Malz in Form von Schrot mit Wasser bei 52 bis 65° vermaischt wird, wodurch bei weitgehendem Eiweißabbau eine Würze mit wenig Eiweiß und Glukose und viel Maltose und Dextrin erhalten und die so gewonnene Würze dann in bekannter Weise vergoren und weiterverarbeitet wird. Die Patentschrift enthält noch einige Patentansprüche und Abbildungen. Bojanovsky (Aussig).

Jalowetz, E., und **Hamburg, M.,** Verfahren zur Erhöhung der Treibkraft von Bierhefe. (Oe. P. 128 048 vom 8. 6. 1931, ausg. 10. 5. 1932.)

Man läßt entbitterte Bierhefe in Zuckerlösungen bei Gegenwart von Mg-, Ca- oder Sr-Salzen gären. Gegen Ende der Gärung fügt man geeignete Halogene oder deren Salze, Oxysalze, H_2O_2, ferner Metallsalze wie Mn-, Fe-, U-Salze oder deren Gemische hinzu und gewinnt die Preßhefe in bekannter Weise. Bojanovsky (Aussig).

Malínský, V., Verfahren zur Herstellung von Spiritus aus Stärkefabrikationsabfällen. (Oe. P. 128 355 vom 29. 7. 1931, ausg. 25. 5. 1932, čsl. Priorität 5. 8. 1930.)

Mit Fruchtwasser verdünnte Pulpe wird auf 50° angewärmt, dann im offenen Dämpfer bis zur Siedetemperatur gebracht und zum Schluß im geschlossenen Dämpfer bei etwa 3 At. gekocht. Die Maische wird dann in bekannter Weise aufgearbeitet. Bojanovsky (Aussig).

Hefefabrik A. G. Olten (Schweiz), Verfahren zur Erzeugung von Hefe. (Schwz. P. 153 184 vom 13. 10. 1930, ausg. 16. 5. 1932, Oe. Prior. 22. 10. 1929.)

Man läßt Hefe unter schwacher Lüftung in einer zuckerhaltigen Nährlösung wachsen, trennt sie dann von der alkoholarmen Lösung ab und läßt mindestens einen Teil des Heferahms nach starker Verdünnung und bei starker Lüftung sich weiter vermehren. Die anfangs gewonnene schwache alkoholische Lösung setzt man nach und nach zu. Der Alkohol wird dann als Kohlenstoffquelle zu weiterem Zellaufbau verwendet.

Bojanovsky (Aussig).

Epstein, A. K., Züchten von Hefe. (U. S. P. 1 858 488 vom 5. 10. 1925, ausg. 7. 5. 1932.)

Man erzielt eine Hefe von besonders guten Backeigenschaften dadurch, daß man sie unter Durchlüftung auf einer Nährlösung züchtet, die außer einem wasserlöslichen Kohlenhydrat Harnstoff und anorganische Hefenährstoffe enthält, welche sich nicht von NH_3 ableiten. Z. B.: 250 Pfund Rübenmelasse, 1250 Gall. Wasser, 1,5 Pfd. $CaSO_4$, 1,5 Pfd. $MgSO_4$ und Na_3PO_4, 4 Pfd. Harnstoff. Die Lösung wird mit 10—15 Pfd. frischer Bäckereihefe beschickt und unter Durchlüftung etwa 30 Std. bei 25—30° vergoren.

Bojanovsky (Aussig).

Byk-Guldenwerke, chemische Fabrik A.-G., Berlin, Verfahren zur Herstellung von Glykonsäure. (D. R. P. 556 731 vom 21. 4. 1931, ausg. 15. 8. 1932.)

Glykonsäure wird durch Vergären von Kohlenhydratlösungen in hohen Flüssigkeitsschichten (Bottichen) mittels Bakterien aus der Gruppe der Essigbakterien, z. B. Bact. oxydans oder Bact. industrium hergestellt. Diese Bakterien, die normalerweise unter Deckenbildung an der Oberfläche wachsen, werden durch einen Züchtungsvorgang an ein gleichmäßiges Wachstum innerhalb der ganzen Flüssigkeit gewöhnt. Die Züchtung erfolgt derart, daß man von kleinen Kulturen ausgeht (Nährlösung: Hefewasser mit 10% Stärkezucker, mit Essigsäure auf $p_H = 2{,}5$ gestellt), auf immer größere Ansätze überimpft und hierbei durch Schütteln bzw. in größeren Ansätzen durch Rühren die Deckenbildung stört. Aus einem größeren Ansatze wird wieder auf eine kleine Kultur überimpft und von neuem zu größeren Ansätzen fortgeschritten. Solche Kreisläufe wiederholt man einige Male. Beim ersten Kreislaufe wird bei den größeren Ansätzen Luft oder Sauerstoff in das Gärgefäß eingeblasen, bei den folgenden verringert man die Luftzufuhr immer mehr und läßt sie zum Schlusse überhaupt fort. Man erzielt auf diese Weise Bakterien, die nun nicht mehr in hohem Maße sauerstoffbedürftig sind und nicht mehr zu Deckenbildung neigen. Sie sind auch außerordentlich widerstandsfähig gegen hohe Säurekonzentrationen. Im Gegensatz zu dem als Glukonsäurebildner bereits bekannten Bact. gluconicum der Kombucha haben sie die Eigenschaft, außer Glukose auch Maltose zu vergären. Bei der technischen Durchführung verwendet man als Rohstoffe z. B. Stärkezuckerlösungen, oder mit Malz verzuckerte Kartoffelmaische. Die Nährlösungen werden zur Vermeidung von Fremdinfektionen auf $p_H = 2{,}5$ eingestellt. Bei 30° C erhält man nach 9—10 Tagen eine Ausbeute von 97% bei Verwendung von Stärkezuckermaische, nach 10—11 Tagen eine Ausbeute von 81% bei Verwendung von Kartoffelmaische. Bojanovsky (Aussig).

Fernbach, A., Yuill, J. L., McLellan, B. G., und Rowntree & Co. Ltd., Verfahren zur Herstellung von Zitronensäure mittels Pilzen. (D. R. P. 551 930 vom 9. 12. 1925, ausg. 8. 6. 1932.)

Zur Zitronensäuregärung mittels Aspergillusarten dienen erfindungsgemäß Lösungen von Rohrzucker und Nährsalzen, die durch Zugabe von HCl auf ph = 1,2 bis 2,5 gebracht worden sind. Man erreicht dadurch, daß das Wachstum von Fremdorganismen auch ohne Hitzesterilisierung der Lösung unterbleibt. Geeignete Aspergillusstämme finden sich vielfach in der Natur z. B. auf Kaffeebohnen und in gewissen Galläpfeln. Eine größere Anzahl natürlicher Stämme züchtet man auf neutralen Nährböden, zweckmäßig auf stärkehaltigen, da der Pilz auf ihnen lebhaft Sporen bildet, überimpft dann auf angesäuerte Zuckerlösung und wählt für die Hauptgärung jene Stämme aus, die das höchste Zitronensäurebildungsvermögen aufweisen. Die Hauptgärung kann so durchgeführt werden, daß der Zucker oder die Nährsalze oder beides in ihrem Verlaufe absatzweise oder stetig zugesetzt werden und Zitronensäurelösung ebenso entnommen wird. Damit man auch mit hohen Flüssigkeitsschichten arbeiten kann, sorgt man zweckmäßigerweise für ständige Bewegung der Flüssigkeit unterhalb der Pilzdecke, was durch Temperaturunterschiede, Pumpwerke oder Rührer bewirkt werden kann. Reste unvergorenen Zuckers können nach Abscheidung der Zitronensäure durch Hefegärung verwertet werden.

Bojanovsky (Aussig).

Fernbach, A., Yuill, J. L., McLellan, B. G., und Rowntree & Co. Ltd., Verfahren zur Herstellung von Zitronensäure. (D. R. P. 558 436 vom 9. 12. 1925, ausg. 7. 9. 1932; Zusatz zu D. R. P. 551 930.)

Das im vorstehenden Referat geschilderte Verfahren wird derart ausgeübt, daß man an Stelle von Rohrzucker andere Kohlenhydrate (z. B. Glukose, Invertzucker, Lävulose, Maltose, Glyzerin u. ä.) und an Stelle von HCl andere starke Säuren (z. B. HNO_3 oder H_2SO_4) oder Gemische von solchen Säuren verwendet. Bojanovsky (Aussig).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Tamiya, H., Über die Verwendbarkeit von verschiedenen Kohlenstoffverbindungen im Bau- und Betriebsstoffwechsel der Schimmelpilze. Studien über die Stoffwechselphysiologie von Aspergillus oryzae. IV. (Acta Phytochimica. Vol. VI. 1932. p. 1—129.)

Verf. untersuchte die Größe des Wachstums und der Atmung von Asp. oryzae in Kulturen mit ca. 120 verschiedenen C-Quellen. Von dem Pilz wurden entweder Sporen ausgesät oder es wurde mit fertigen Decken gearbeitet. Bei der Deckenkultur wurden von den 123 C-Verbindungen 51 sowohl zur Atmung wie zum Wachstum verwertet, wogegen bei 8 Verbindungen nur Atmung und kein Pilzwachstum beobachtet wurden. Von den restlichen C-Verbindungen zeigten 17 keine Wirkung auf den Pilz, während 47 nicht nur Hemmung der Restatmung, sondern auch mehr oder minder deutliche Herabsetzung des Anfangspilzgewichtes herbeigeführt haben. — Bei den Sporenkulturversuchen zeigten 47 C-Quellen mehr oder weniger positives Wachstum, 7 aber nur unbedeutendes Auskeimen oder Heranwachsen der Pilzhyphen, während bei den restlichen 69 Verbindungen gar kein Wachstum stattfand.

Im allgemeinen wurde gefunden, daß Kohlenhydrate und mehrwertige Alkohole (Glyzerin, Erythrit, Adonit, Mannit, Sorbit, Dulcit, Stryacit, Dioxyaceton, Inosit u. a.) für Asp. oryzae die besten C-Quellen darstellen.

Dagegen sind die aromatischen Alkohole und einwertigen Paraffinalkohole mit Ausnahme des Äthylalkohols für den Pilz nicht verwertbar. Unter den organischen Säuren (angewandt als K-Salze) stellen im großen und ganzen die Paraffindikarbonsäuren (Bernsteinsäure, Azelainsäure, Sebacinsäure, nicht aber Oxalsäure, Malonsäure, Glutarsäure, Adipinsäure), die Oxykarbonsäuren (Milchsäure, β-Oxybuttersäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Weinsäure u. a.) und die Ketokarbonsäuren (Brenztraubensäure) besser ausnutzbare C-Quellen dar als die Monokarbonsäuren und die Olefinkarbonsäuren (mit Ausnahme von Aconitsäure). — Von den zyklischen Säuren sind verschiedene Phenolkarbonsäuren (Salizylsäure, m-Oxybenzoesäure, Protocatechusäure, Gallussäure u. a.), Chinasäure und Kojisäure mehr oder weniger gute C-Quellen. Nicht verwertbar für den Pilz sind aber verschiedene Aldehyde, Ketone und Äther. Von den Phenolen wird nur Hydrochinon veratmet, aber nicht assimiliert. Sehr deutliche Atmung und üppiges Wachstum zeigte Monoacetin, nicht aber Triacetin.

Asp. oryzea bildet Kojisäure nicht nur aus den Hexosen und den daraus zusammengesetzten Kohlenhydraten, sondern auch aus Pentosen (Arabinose, Xylose), mehrwertigen Alkoholen (Glyzerin, Erythrit, Adonit, Mannit, Sorbit, Dulcit, Styracit, Inosit), sowie aus einer organischen Säure (Bernsteinsäure).

Auf Grund seiner Untersuchungen kommt Verf. zu der Annahme, daß bei verwertbaren C-Quellen gewisse 2-C-atomige Radikale („Hauptradikale") an einem Ende der Kette oder im Ring vorhanden sind und daß die Verbrennung der C-Quellen immer mit der oxydo-reduktiven Abspaltung des „Hauptradikals", z. B. bei Fettsäuren mit der Zertrümmerung der C-Kette beim β-C-Atom, einsetzt. Thies (Hannover).

Johnson, F. H., Effects of electromagnetic waves on fungi. (Phytopathology. Bd. 22. 1932. S. 277—300, 3 Abb.)

Collybia dryophila, Fusarium batatatis und Sclerotium bataticola wurden dem Einfluß von γ-, β-, X-, Schumann-, ultravioletten, sichtbaren und infraroten Strahlen, sowie dem von Hertzschen Wellen ausgesetzt. Eine geringe Hemmung des Wachstums durch γ-Strahlen wurden nur bei C. dryophila beobachtet; eine Hemmung bei allen 3 Pilzen, am stärksten bei Collybia, wurde durch β-Strahlen hervorgerufen. Keinen Einfluß übten X-Strahlen aus. Schumann-Strahlen riefen eine Koagulation und Granulation des Protoplasmas in den oben liegenden Zellen des Myzels hervor. Die ultravioletten Strahlen hatten verschiedene Wirkung, je nachdem ob die Strahlen zunächst durch Cellophan oder durch Filter geschickt wurden. Durch gewöhnliches Licht wurde bei F. batatatis eine Vermehrung der Pigmente erzielt. Durch infrarote Strahlen und durch Hertzsche Wellen wurden bei den Pilzen keine Veränderungen hervorgerufen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Reitsma, J., Studien über Armillaria mellea (Vahl) Quel. Dissertation. Dessau (Gustav Zichäus) 1932. 517 S., mit mehr. Abb.

Armillaria mellea bildet in Reinkulturen nur schwer Fruchtkörper, trotzdem gelang es Verf. auf Agarnährböden nach 3—4 Monaten bei 18—22° C und diffusem Tageslicht, welche zu bekommen. Obwohl dieselben meist abnorm gebildet waren, erzeugten sie mitunter doch keimfähige Sporen. Öfteres Überimpfen auf flüssige Nährböden hemmt die Rhizo-

morphenbildung schließlich ganz. Optimales Wachstum findet statt bei ph 5 und 25° C. Von den N-Quellen gibt Pepton das größte Myzelgewicht, KNO_3 das kleinste; ebenso für die C-Quellen Glukose resp. Zellulose. Über die Bekämpfung des Pilzes werden einige Angaben gemacht über erfolgreiche Versuche mit Uspulun (0,6%), Schwefelkohlenstoff, Sublimat (0,6%) und Kupfersulfat + Calciumoxyd (10%). Aus Bodenuntersuchungen geht hervor, daß Armillaria mellea sich am besten in leichten, sauren Böden entwickelt, dagegen schlecht oder gar nicht in schweren, alkalischen oder NaCl-haltigen Böden. Das Leuchten steht in engem Zusammenhang mit der Entwicklung der Rhizomorphen. A. mellea kann ohne freien Sauerstoff nicht leben; dieser kann von den Rhizomorphen über gewisse Strecken dem Pilze zugeführt werden.

van Beymathoe Kingma (Baarn).

Mast, S. O., The nature of the action of electricity in producing response and injury in Amoeba proteus (Leidy) and the effect of electricity on the viscosity of protoplasm. (Ztschr. vergl. Physiol. Bd. 15. 1931. S. 309—328.)

Amoeba proteus orientiert sich im galvanischen Strom in ausgesprochener Weise nach der Kathode hin. Auch die Plasmaströmung in ihr wird dadurch beeinflußt. Bei der Reaktion auf Elektrizität wie in denen auf Licht besteht keine spezifische Reizschwelle, und das Alles- oder Nichts-Gesetz trifft nicht zu. Im Wechselstrom orientiert und bewegt sich A. proteus im rechten Winkel zur Stromrichtung. Die Viskosität steigert sich an den beiden Seiten, die den Polen gegenüberliegen, und vermindert sich im mittleren Teil. Bei starkem Strom bricht die Amöbe an einer oder beiden Seiten auf, und das dünnflüssige Plasma pflegt dann herauszufließen. Steigerung der Viskosität ist auf lokalisierte Anhäufung von negativen Ionen und auf Vereinigung derselben mit H-Ionen, Verminderung der Viskosität auf Anhäufung und Vereinigung von positiven Ionen mit Hydroxyl-Ionen zurückzuführen. Im ersteren Falle nimmt die Azidität, im letzteren die Alkalität zu. In saurem Medium findet auch bei sehr starkem elektrischen Strom keine Desintegration der A. statt. A. dofleini reagiert nicht auf den elektrischen Strom.

K. Friederichs.

Kryž, F., Das mikroskopische Bild der gewöhnlichen und das der präparierten Kieselgur. (Ztschr. f. d. Zuckerind. d. tschechosl. Rep. Bd. 56. 1932. S. 519—521.)

Kieselgur, die in der Zuckerindustrie als Filtermaterial zur Verbesserung der Zuckersäfte verwendet wird, kommt in gewöhnlichem Zustande oder fein vermahlen als präparierte Kieselgur in den Handel. Eine mikroskopische Unterscheidung beider Sorten beruht auf der Tatsache, daß die gewöhnliche Gur unversehrte Diatomeenpanzer zeigt, während die präparierte vielfach deren Bruchstücke aufweist. So wurden z. B. in einer Probe von gewöhnlicher weißer Gur der vereinigten deutschen Kieselgurwerke, Hannover, unversehrte Panzer folgender Arten aufgefunden: Cyclotella, Meridion, Navicula, Gomphonema, Synedra, Nitzschia, Melosira, Gaillonella. Lüneburger Infusorienerde besteht vorwiegend aus Synedra ulna, Franzenbader aus Navicula- und Gomphonemaarten, die Biliner Tripelerde meist aus Gaillonellaarten. Präparierte amerikanische Gur, Marke Hyflo-Cel enthält im Gegen-

satz hierzu keine Süßwasserdiatomeen, sondern verschiedene marine Arten. Die einzelnen Panzer waren, wie bereits erwähnt, meist zerbrochen. Eine Infusorienerde ist um so wertvoller, je mehr Diatomeenpanzer sie enthält. Das Mikroskop ist daher ein wertvolles Hilfsmittel zur Qualitätsermittlung.
Bajonovsky (Aussig).

Hamilton, W. B., Gum production by azotobacter chroococcum of Beijerinck and its composition. (Journ. Bact. Vol. 22. 1931. p. 249—254.)

Azotobacter chroococcum bildet aus den verschiedensten Zuckern Gummi; die besten Ausbeuten wurden erzielt aus Inulin, Dextrin und Raffinose, die geringsten aus den Mono- und Disacchariden. Zusatz von Protein, wie Pepton erhöht die Gummibildung, ist aber nicht unbedingt erforderlich, dagegen wird aus Pepton allein kein Gummi gebildet. — Dieses Gummi ist ein höheres Kohlenhydrat, es reduziert nach Erhitzen mit Säure nicht Fehlingsche Lösung; es ist l.-dreh., und daher ein echtes Gummi (Araban) und kein Dextrin. Thies (Hannover).

Friedberger, E., und **Hoder, F.,** Lysozym- und Flockungsphänomen des Hühnereiklars. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Ther. Bd. 74. 1932. S. 429—447.)

Unter 83 aus der Luft isolierten Bakterien befand sich nur ein Stamm, der stark lysozymempfindlich war, aber doch an Empfindlichkeit dem Microc. lysodeicticus nachstand. Partielle Lysozymempfindlichkeit, die sich in teilweiser Aufhellung der Bakterien-Emulsion kundtut, kam öfter zur Beobachtung. Mitunter trat in Verbindung mit der partiellen Lysozymwirkung, sehr viel häufiger jedoch bei nichtlysozymempfindlichen Luftkeimen ein eigentümliches Flockungsphänomen auf, und zwar oft bis zu hohen Verdünnungen des Eiklars. Dieses Phänomen äußerte sich im Auftreten von Bakterienklümpchen (wie bei der Agglutination, die natürlich ein ganz anderes Phänomen darstellt) oder, was häufiger der Fall war, im Auftreten grober Flocken und schleimiger Schlieren, die sich am Boden der Röhrchen festsetzten und verklumpten und aus gramnegativer Substanz bestanden, in die teils verklumpte, teils freie Bakterien eingelagert waren, und die sich durch Schütteln nur schwer in der Flüssigkeit verteilen ließen. Die Flockungswirkung des Eiklars trat, im Gegensatz zur Lysozymwirkung, auch gegenüber pathogenen Keimen in Erscheinung, so besonders gegenüber Dysenteriebakterien. Wie es scheint, sind Lysozym- und Flockungswirkung verschiedene Äußerungen desselben Prinzips. Dies wird aus folgenden Ergebnissen geschlossen: 1. Gekochtes Eiklar hatte weder Lysozym- noch Flockungsfähigkeit. Andererseits war bei gekochten Bakterien Lysozym- und Flockungsempfindlichkeit abgeschwächt. 2. Lysozym- und Flockungswirkung gingen optimal in Eiklarlösungen vor sich, die mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt waren. Starke Kochsalzkonzentrationen (5 und 8%) aber hemmten beide Phänomen in gleicher Weise. 3. Adsorbentien (Tierkohle, Bolus alba, Kaolin) adsorbierten das flockende Prinzip des Eiklars ebenso wie das Lysozym. Eine spätere Trennung war nicht möglich. Rodenkirchen (Duisburg).

Dold, H., Ein neues färberisches Einteilungsprinzip für Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 124. 1932. S. 220—223.)

Es wird ein neues färberisches Einteilungsprinzip für Bakterien beschrieben, bei dem sich die gramnegativen Bakterien gleichsinnig verhalten, während die grampositiven Bakterien in 4 Untergruppen zerfallen: a) positive (Milzbrand-, Kartoffel-, Wurzel-, Heubazillen, Hefen, Mycobakterien, Rotlaufbakterien), b) negative (Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken, Tetanus-, Rauschbrand-, Fraenkelsche Gas-, Botulinus- und Butyricusbazillen), c) schwankende, d. h. teils positiv, teils negativ sich färbende Keime in der gleichen Kultur (Sarc. tetragena), d) unregelmäßig periodisch wechselnde, d. h. die Positivfärbung tritt nicht bei jeder Generation auf (Pneumokokken). — Die Färbung: Das Material (18—24stünd. Agarkultur) wird in gleichmäßig dünner Schicht ausgestrichen, an der Luft getrocknet und nach Fixierung in der Flamme kalt gefärbt: a) 3 Min. mit Karbol-Anilingrün, das vor Gebrauch durch ein gehärtetes Filter zu filtrieren ist. Abspülen unter fließendem Wasser und abtrocknen mit Fließpapier, b) 2 Min. mit Lugolscher Lösung, nicht abspülen, abtrocknen mit Fließpapier, c) 5 Min. entfärben mit Harnstoff-Alkohol (nach ca. 1 Min. abgießen und neue Lösung auftropfen lassen), gründlich unter fließendem Wasser abspülen, abtrocknen mit Fließpapier, d) 1 Min. nachfärben mit Bismarckbraun, abspülen, abtrocknen. — Die Bereitung der Lösungen: Karbol-Anilingrün besteht aus 8 Teilen Lösung a (1 ccm konz. verfl. Karbolsäure + 99 ccm Aqu. dest.) und 2 Teilen Lösung b (in 96proz. Alkohol gesättigtes Anilingrün nach Straßburger). Das Gemisch wird nach kräftigem Schütteln filtriert, ist geschlossen aufzubewahren und erst 24 Std. nach Herstellung gebrauchsfähig (Haltbarkeit 2—3 Wochen). Harnstoff-Alkohol: 9 Teile Alkohol abs. + 1 Teil 40proz. wässerige Lösung von Harnstoff (40 g Harnstoff Schering-Kahlbaum krist. auf 100 ccm Aqu. dest.). Bismarckbraun: 1 Teil alkol. (96proz.) gesättigte Lösung + 9 Teile Aqu. dest. Rodenkirchen (Duisburg).

Hoffmann, W. H., Über das Wesen der Virusse. (Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 36. 1932. S. 185—190.)

Ein Virus wurde als Krankheitsursache vor kaum 40 Jahren zuerst erkannt; heute gibt es etwa 200 Krankheiten, die mit einem Virus in Beziehung gebracht werden. Wir kennen aber nicht das Wesen der Vira, sondern nur einige ihrer Eigenschaften. An der untersten Grenze des Lebens stehen die Fermente, Hormone, Vitamine u. a. geheimnisvolle Stoffe; zwischen diesen und den kleinsten Zellen stehen die Vira. Sie befinden sich demnach „auf einer oder mehreren Entwicklungsstufen zwischen einer noch ungeformten, aber mit bestimmten Lebenskräften ausgestatteten Substanz und den niedrigsten uns bekannten Formen der Lebewesen zelligen Baues". Die Virusfrage fällt zusammen mit der nach dem Wesen des Lebens; in dem Zwischenreich zwischen der Zelle und dem toten Molekül müssen wir die Erklärung für das Leben suchen, und „vielleicht verbirgt sich hinter dem Virus das Geheimnis des Lebens in greifbarer Form". Einfachste Lebenseinheiten sind lebende Atome und Moleküle. Wir kommen zu der Vorstellung eines Urlebensstoffes, bestehend aus Atomen der sonst bekannten Elemente, die unter Einflüssen, welche uns noch unbekannt sind, das Leben als besondere Eigenschaft angenommen haben. Welche Kräfte leblose Substanz in lebendige verwandeln, ist uns noch unbekannt. In der Form der Vira oder ähnlicher Kleinlebewesen ohne zelligen Bau treten uns vielleicht

die einfachsten, die Urlebewesen entgegen. Ein scharfes Bild von ihnen kann noch nicht entworfen werden, da wir sie noch nicht einmal sicher abgrenzen können. Bisher nur als Krankheitserreger bekannt, sind sie vielleicht viel weiter in der Natur verbreitet und auch an anderen Lebensvorgängen wesentlich beteiligt. Wie einst die Zellforschung, dann die Bakteriologie es getan haben, eröffnet die Virusforschung eine geheimnisvolle und unübersehbare neue Welt. K. Friederichs.

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Sherman, J. M., and Stark, P., Streptococci which grow at high temperatures. (Journ. Bact. Vol. 22. 1931. p. 275—285.)

Verff. isolierten aus Milch (roh oder mit Kot, Käse u. a. infiziert) bei 45° 294 Streptokokken, die im einzelnen beschrieben werden:

Streptococcus thermophilus bildet in Milch wachsend lange Ketten, wächst bei 50°, aber nicht bei 10°, bei Zimmertemperatur langsam; hämolysiert nicht Blut; verändert Lackmus-Milch deutlich nach Koagulierung; bildet aus Pepton kein Ammoniak; vergärt Glukose, Laktose und Saccharose; dagegen nicht Maltose, Inulin, Mannit, Glyzerin und Salizin; Vergärung von Raffinose und Arabinose ist unsicher. Die Widerstandsfähigkeit gegen das Pasteurisieren ist größer als bei den anderen untersuchten Spezies.

Str. bovis: Wachstum bei 45°, dagegen kein Wachstum bei 10 und 50°; hämolysiert kein Blut; vergärt Arabinose, Glukose, Maltose, Laktose, Saccharose, Raffinose, Salizin, und hydrolysiert Stärke; vergärt nicht Glyzerin, unsicher Inulin und Mannit.

Str. inulinaceus unterscheidet sich von Str. bovis dadurch, daß er immer Inulin, dagegen nicht Arabinose vergärt; Stärkehydrolyse ist nur schwach.

Str. fecalis wächst bei 10, 45 und etwas auch bei 50°; bildet aus Pepton Ammoniak; vergärt Arabinose, Glukose, Maltose, Laktose und Salizin, dagegen nicht Raffinose, Inulin und Glyzerin; hydrolysiert nicht Stärke; Vergärung von Saccharose und Mannit erscheint unsicher; Kasein wird nicht abgebaut und Gelatine nicht verflüssigt.

Str. glyzerinaceus unterscheidet sich von Str. fecalis dadurch, daß er Glyzerin und Saccharose immer vergärt. Glyzerinaceus bringt Milch gewöhnlich nicht so schnell zum Gerinnen wie fecalis.

Str. liquefaciens wächst bei 10, 45°, bei 50° Wachstum unsicher; bildet aus Pepton Ammoniak; vergärt Glukose, Maltose, Laktose, Saccharose, Raffinose, Glyzerin, Mannit und Salizin; vergärt nicht Arabinose und Inulin; hydrolysiert nicht Stärke; aber verflüssigt Gelatine und baut Kasein ab.

Str. zymogenes unterscheidet sich von Str. liquefaciens dadurch, daß er beta-hämolytisch ist und Arabinose vergärt.

Str. inulinaceus, Str. glyzerinaceus und Str. zymogenes sind vielleicht Varietäten von Str. bovis, Str. fecalis und Str. liquefaciens. Alle diese Streptokokken überleben ein 30 Min. langes Erhitzen auf 62,8° C in Milch. Thies (Hannover).

Skar, Olav, Die Pasteurisierung der Milch. (Milchwirtsch. Zentralbl. Bd. 61. 1932. S. 173—177, 185—190.)

Nach Ansicht des Verf.s ist es für norwegische Verhältnisse im allgemeinen besser, an der rohen Konsummilch festzuhalten. Auf Grund wissen-

schaftlicher Ergebnisse erscheint es bedenklich, ein Volksnahrungsmittel wie die Milch durch künstliche Behandlung ihrer natürlichen Eigenschaften zu berauben. Die norwegische Milch ist infolge der Eigenart des Landes ganz besonders arm an Vitamin C; dies gilt vor allem für die Wintermilch. Wenn man neuerdings versucht, im Hinblick auf die Abortus Bang-Infektion die Pasteurisierung wieder energischer zu fordern, so ist dies wegen der geringen Menschenpathogenität dieser Keime keineswegs berechtigt. Den von Krankheitserregern drohenden Gefahren kann auch auf andere Weise begegnet werden, nämlich durch saubere Gewinnung und sofortige Kühlung der Milch. Woran die Tierärzte interessiert sind, das ist hauptsächlich die zurückzugebende Magermilch. Hierbei ist folgendes zu verlangen: 1. Die Pasteurisierung soll so effektiv wie möglich werden; 2. die Milch soll möglichst schonend pasteurisiert werden; 3. nach Möglichkeit ist zu vermeiden, daß sie Kochgeschmack annimmt. — Verf. bespricht dann genauer die Vorteile und Mängel der Hochpasteurisierung, Niedrigpasteurisierung und Dauerpasteurisierung.

Die Hochpasteurisier-Apparate haben folgende Vorteile: Sie erfordern wenig Platz, die Pasteurisierung ist verhältnismäßig billig und erfolgt rasch, das C-Vitamin der Milch bleibt zum Teil erhalten, man kann leicht und ziemlich sicher kontrollieren, daß die Milch bis zu einer Temperatur von wenigstens 80° erwärmt worden ist. Sie haben folgende Mängel: Sie sind weniger zuverlässig, die Milch nimmt leicht Kochgeschmack an und verändert sich chemisch, viele ungünstige Bakterien der Milch, welche die Pasteurisierung überstehen, können mangels Konkurrenz von seiten der Säurebildner in verstärktem Maße zerstörend wirken, die Milch läßt sich schwer für die Käserei verwenden, der Rahm setzt sich nicht genügend ab usw. — Als besonders unzuverlässig ist nach Verf. der Stab-Rührwerkspasteur zu betrachten, und zwar wegen der Schwankungen in der Temperatur. — Die Niedrigpasteurisierung wird in den Hochpasteurisierungs- und Momenterhitzungs-Apparaten bei Temperaturen von 70—75° C vorgenommen. Die Vorteile sind folgende: Kein anderes der üblichen Pasteurisierungsverfahren wirkt auf den Geschmack der Milch so wenig ein wie dieses, falls nicht mit Dampf erwärmt wird. Sicherlich ist auch die chemische Veränderung geringer als bei allen anderen Pasteurisierungsmethoden. Es ist auch das billigste; allerdings können die Apparate selbst sehr teuer sein. Die Milch kann für die Käserei verwendet werden. Die Nachteile bestehen darin, daß auch bei dieser Pasteurisierungsmethode die Milch nicht ganz unbeschädigt bleibt, ihre Bakterienflora wird ebenfalls ungünstig beeinflußt, es läßt sich durch eine chemische Reaktion schwer nachweisen, daß die Pasteurisierung erfolgt ist. Infolgedessen kann man die Milch als roh verkaufen und aufs neue pasteurisieren oder kochen. Ferner ist die Niedrigpasteurisierung nicht so zuverlässig wie die Dauerpasteurisierung. In dieser Hinsicht steht sie auch hinter der Hochpasteurisierung zurück, wenn für beide dieselben Apparate benutzt werden. — Genauer besprochen wird der Stassano-Apparat, dessen bakteriologische Wirkung sehr groß, dessen Anschaffung aber sehr teuer ist, ferner der Plattenpasteurisierungs-Apparat. Dieser führt sich allmählich auch in der Hochburg der Pasteurisierung, den Vereinigten Staaten, ein, wo man aber außer einem kurzen „holding" als weitere Sicherheit eine automatische Ausschaltung der Milchzufuhr bei Unterschreitung einer Temperatur von 73° C verlangt. Der Tödt-Apparat wird des weiteren vom Verf. als recht zuverlässig geschildert. — Was die Dauerpasteurisierung anlangt, so wird sie vom Verf. als am zweckmäßigsten angegeben. Die Vorteile sind folgende: Der Geschmack der Milch verändert sich nicht stark. Verhältnismäßig viele säurebildende Bakterien überstehen die Pasteurisierung. Es sind sicherlich mehr als bei den anderen Pasteurisierungsmethoden. Der Rahm setzt sich gut ab. Die Herstellung von Käse wird nicht beeinträchtigt. — Mängel: U. a. nimmt die Pasteurisierung viel Zeit in Anspruch, die Apparate sind in der Anlage nicht billig und nehmen viel Platz weg. Die Erhitzung ist durch die chemische Prüfung sehr schwer zu kontrollieren. Die Milch ist, da sich während des Pasteurisierungsprozesses selbst thermophile Bakterien entwickeln, nicht immer haltbar genug und nach der Pasteurisierung bleibt nur wenig Vitamin C übrig. — Der Dauerpasteurisierung in der Flasche selbst steht Verf. mehr oder weniger ablehnend gegenüber. — Anschließend bespricht Verf. die Wirksamkeit der einzelnen Apparate hin-

sichtlich der Abtötung der Colibakterien. Für die sog. Retourmilch käme nur die Hochpasteurisierung und die Dauerpasteurisierung in Frage. Im übrigen müsse man aber daran festhalten, daß auch die Pasteurisierung einmal versagen kann und daß es überhaupt sehr schwierig ist, in der Praxis, besonders draußen auf dem Lande, eine wirksame Kontrolle durchzuführen. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Black, L. A., Prouty, C. C., and Graham, R. A., The effect of pasteurization on the bacterial flora of low count milk. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. p. 99—112.)

Da die früheren Untersuchungen über die bakteriologische Zusammensetzung und Haltbarkeit der dauerpasteurisierten Milch noch zu Zeiten vorgenommen wurden, wo die Milch wegen unhygienischer Gewinnung wesentlich keimhaltiger war als heutzutage, ist es nicht ohne weiteres selbstverständlich, daß diese Ergebnisse auch auf Milch angewendet werden dürfen, die heute infolge reinlicher Gewinnung schon vor der Pasteurisierung sehr arm an lebenden Mikroorganismen ist. Die praktische Erfahrung zeigt nämlich, daß derartige Milch gern anormalen Geschmack und Geruch annimmt, ohne zu gerinnen. Zur Klärung dieser Frage wurde folgendermaßen vorgegangen: Proben frischer Magermilch mit einem Durchschnittskeimgehalt von rund 3500 pro ccm wurden halbiert, die eine Hälfte wurde im Laboratorium 30 Min. bei 61,4° C pasteurisiert, die andere roh belassen. Dann wurde jede der Halbproben nochmals halbiert und je eine Flasche der pasteurisierten und rohen Milch bei 20° und bei 7,3° C bis zum Verderben aufbewahrt. Gleichzeitig wurden in Intervallen bakt. Untersuchungen auf Gesamtkeimgehalt und qualitative Zusammensetzung der Flora ausgeführt. Als Nährboden diente Zuckerkaseinatagar mit Bromkresolpurpur. Die Säurebildner wurden an der gelben Koloniefarbe, die Alkalibildner an der Purpurfarbe erkannt, die Proteolyten wurden durch Überschwemmen der bereits gezählten Platten mit verdünnter Essigsäure und Auszählen der mit Höfen versehenen Kolonien festgestellt.

Es zeigte sich nun im Gegensatz zu den Befunden von Ayers an keimreicherer Milch, daß bei der Dauerpasteurisierung keimarmer Milch die Säurebildner schon in der frisch pasteurisierten Milch einen proz. Rückgang zugunsten der Alkalibildner erleiden. Bei der Aufbewahrung bei 20° C tritt zwar wieder ein Ansteigen auf, das aber bei weitem nicht an dasjenige in der gleichbehandelten Rohmilch heranreicht. Das Übergewicht der Proteolyten und Alkalibildner in den past. Proben kann in keiner Weise mehr wettgemacht werden. Gleichzeitige Aziditätsbestimmungen erhärteten diesen Befund, ebenso Verimpfung von Milchproben in Zuckerbouillon nach Cooledge-Devereaux. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Broadhurst, L., and Krug, E., Control of spreaders in milk plates. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. p. 142—146.)

Da Schwärmkolonien beim Bestimmen der Kolonienzahl auf Milchagarplatten mitunter große Schwierigkeiten bereiten, wäre eine Methode zu ihrer Unterdrückung sehr erwünscht. Verff. fanden, daß die Behinderung durch Anwendung höher konzentrierten Agars erreicht werden kann. 3proz. Agar erwies sich wirkungsvoller als 2proz. Agar. Die Gesamtkeimzahl wird durch Verwendung des höher konzentrierten Agars nicht merklich beeinflußt, ebensowenig das Auftreten von sog. „pin point"-Kolonien. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Knaysi, Georges, An economical method of producing acidophilus milk. (Journ. of Dairy Science. Vol. 5. 1932. p. 71—72.)

Wegen des verhältnismäßig langsamen Wachstums von L. acidophilus in Milch treten bei der technischen Herstellung von Azidophilusmilch vielfach Schwierigkeiten auf infolge Infektion mit anderen Keimen, insbesondere mit Sporenbildnern. Die neue Methode versucht diese folgendermaßen zu überwinden: Die zur Herstellung bestimmte Magermilch wird während 2½—3 Std. bei 37—40° C bebrütet, um den evtl. vorhandenen Sporen Zeit zum Auskeimen zu lassen. Dann wird während 30 Min. bis nahe an den Siedepunkt erhitzt, schnell wieder auf 37—40° C abgekühlt und hierauf mit einer kräftig wachsenden Azidophiluskultur beimpft. Das Ganze bleibt bei dieser Temperatur stehen, bis Gerinnung eingetreten ist. — Das Verfahren hat sich in dreimonatiger Praxis bis jetzt gut bewährt. Die auf diese Weise erzeugte Azidophilusmilch ist heller in der Farbe als die früheren Erzeugnisse und besitzt nur einen sehr geringen Kochgeschmack. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Breed, R. S., and al., Methods for use in the bacteriological examination of dry milk and related powders. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. (1932.) p. 383—389.)

Diese Vorschrift hat nur vorläufigen Charakter und soll zwecks endgültiger Festlegung hiermit zur Kritik der gesamten interessierten Öffentlichkeit gestellt werden. Einleitend wird die Art der Probenahme besprochen. Es ist dabei zu beachten, daß die Proben nicht unmittelbar an der Oberfläche bzw. Verpackung entnommen werden dürfen. Bei größeren Stücken (25 Pfund und mehr) nimmt man anstatt eines sterilen Löffels besser einen großen Butterbohrer und vereinigt drei an verschiedenen Stellen herausgestochene Säulen zu einer einzigen Probe. Das Pulver wird unter sterilen Bedingungen gründlich gemischt und dann je nach Bedürfnis nach den verschiedenen Methoden verarbeitet. A. Plattenmethode: 10 g Pulver werden in einer Verdünnungsflasche mit 90 ccm destilliertem sterilen Wasser gründlich vermischt. Von hier ausgehend werden dann in der üblichen Methode die weiteren Verdünnungen hergestellt. Bei solchen Pulvern, die sich nicht leicht lösen, empfiehlt sich, das Verdünnungswasser vorher auf eine Temperatur von 45—50° C zu bringen. Bei Sauermilchpulver nimmt man anstatt des Verdünnungswassers n/10 LiOH zur besseren Auflösung. Dasselbe gilt für Calcium-Kaseinat-Pulver, man stellt aber hierbei von Anfang an keine 1 : 10, sondern eine 1 : 100-Verdünnung her, um übermäßiges Schäumen zu vermeiden. — Als Bebrütungstemperatur kann man außer den üblichen 2 Tagen bei 37° C auch andere Zeiten und Temperaturen nach speziellem Bedürfnis verwenden, z. B. 5 Tage bei 25° C, 3 Tage bei 30° C, 2 Tage bei 35° C oder 2 Tage bei 55° C (für Untersuchung auf Termophile). Das Zählen der ausgewachsenen Kolonien wird wie in den Standardvorschriften vorgenommen, wobei besonders darauf zu achten ist, daß die Klarheit des Agars durch zahlreiche ungelöste Pulverteilchen beeinträchtigt ist. B. Die Kleinplattenmethode nach Frost läßt sich ebenfalls anwenden, die Herstellung der Verdünnungen geschieht wie eben beschrieben. C. Die direkte mikroskopische Methode nach Breed hat nur einen gewissen Wert für die Beurteilung der zum Trocknen verwendeten Frischmilch. D. Prüfung auf hämolytische

Streptokokken. Dem mit 0,5% Kochsalz versetzten Standardagar werden unmittelbar vor dem Gießen der Platten 2—5 ccm aseptisch gewonnenen defribrinierten Blutes zugefügt. Nach zweitägiger Bebrütung bei 37° C werden verdächtige Kolonien mittels Gramfärbung auf die Anwesenheit von Streptokokken untersucht. E. Prüfung auf thermophile Bakterien. Für gewöhnliche Laboratoriumszwecke genügt der Standardagar, für genauere Untersuchungen ist jedoch folgende Agarzusammensetzung zu empfehlen: (auf 1 l Agar) Bacto-Tryptophan-Brühe 2,5 g, Bacto-Hefeextrakt 1,0 g, Glukose 1,0 g — ph 7,0 ± 0,2. Um rasches Austrocknen zu vermeiden, werden zum Ausgießen 15 ccm Agar genommen. Bebrütung 2 Tage bei 55° C. Gefäß mit Wasser in Thermostaten stellen! — Entspricht irgendeiner der angegebenen Nährböden nicht dem Zweck einer speziellen Untersuchung, wird folgender Agar empfohlen: Bacto-Tryptophan-Brühe 2,5 g, Bacto-Pepton 2,0 g, Bacto-Hefeextrakt 1,0 g, Glukose 5,0 g, Agar 15,0 g, Wasser 1000 ccm. Bebrütung am besten 3 Tage bei 30° C, wenn nicht anders benötigt. Die Prüfung auf Schimmelpilze und Hefen kann unter Umständen ebenfalls guten Aufschluß über die sanitären Bedingungen bei der Fabrikation geben. — Das Resultat der Zählungen soll normalerweise auf 1 g Trockenpulver bezogen werden. Auf Wunsch kann die Bezugnahme auch auf 1 ccm der aufgelösten Milch geschehen (in der Regel treffen auf 1 g Pulver 8 Teile Wasser). Jedenfalls soll bei jedem Bericht auch die Art des verwendeten Agars und die Bebrütungszeit und -temperatur angegeben werden.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

McCrady, M. H., and Langevin, Em., The Coli-aerogenes determination in pasteurization control. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. p. 321—329. 1932.)

Es wurde Brillantgrünbouillon unter Anwendung des Verdünnungsverfahrens für die Colititerbestimmung angewendet. Die Methode, die Coli aerogenes-Infektion zur Kontrolle pasteurisierter Milch heranzuziehen, bewährt sich aus folgenden Gründen: 1. Vorschriftsmäßig pasteurisierte Milch zeigt nach Verimpfung von 1 ccm Milchportionen in Anreicherungsbouillon keine positiven Coli aerogenes-Befunde; 2. geringe Mengen eingeimpfter Coli aerogenes-Organismen machen sich im Pasteurisierungs-Apparat sofort an sog. schadhaften bzw. gefährlichen Stellen breit und können mit Leichtigkeit nachgewiesen werden; 3. ist die gewöhnliche Plattenmethode ungeeignet, eine Reinfektion mit genügender Sicherheit anzuzeigen. Große Stadtmolkereien, und vielleicht auch kleinere, sind in der Lage, dem Verbraucher pasteurisierte Milch anzuliefern, die in nicht mehr als 10—20% der untersuchten 1 ccm-Portionen positive Coliwerte zeigen. Die hier gezogenen Schlüsse decken sich mit denen, die bereits 1919 in dem Bericht des Milchversorgungskomitees niedergelegt worden sind. Nach Verff. ist es unbedingt notwendig, in Ergänzung der „Standard Methods of Milk analysis" auch Vorschriften über Coli aerogenes-Bestimmung zur Kontrolle pasteurisierter Milch herauszubringen.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Hammer, B. W., and Hussong, R. V., Action of an aerobic spore-forming organism on evaporated milk. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. p. 220—229. 1932.)

Bei den Erzeugnissen einer Kondensmilchfabrik im mittleren Westen der Vereinigten Staaten wurde beobachtet, daß entweder ganz kleine Mengen

weichen Gerinnsels auftraten oder daß gleich die ganze Milch insgesamt geronnen war. Es gelang, aus dreien solcher verdorbenen Kannen einen aeroben Bazillus zu isolieren, der, obwohl er nicht ohne weiteres als primäre Ursache betrachtet werden konnte, dennoch einer genaueren Analyse hinsichtlich seines Verhaltens in kondensierter Milch unterzogen wurde. Er wurde als Bacillus cereus identifiziert. Es zeigte sich, daß er in der Lage ist, evaporierte Milch in verschlossener Dose langsam bei 37° zum Gerinnen zu bringen, und zwar ohne jede Geschmacksveränderung, falls die Bebrütungszeit nicht zu lange ausgedehnt wurde. Mikroskopisch konnte der Keim in geringer Menge nur unmittelbar nach erfolgter Koagulation gefunden werden. Anders bei Luftzutritt. Hier wurde die Milch unter unangenehmer Geschmacks- und Geruchsbildung und massenhafter Entwicklung des Keimes schnell dickgelegt. Trotzdem kann der Organismus nicht als Hauptursache der fehlerhaften Produktion betrachtet werden; denn nach seiner Fähigkeit, in Milch lange am Leben zu bleiben, hätte er sich in sämtlichen Dosen nachweisen lassen müssen, des weiteren zeigten die geronnenen Dosen-Inhalte keinerlei Erhöhung des löslichen und Amino-Stickstoffs, wie das bei künstlicher Impfung von Dosenmilch mit dem Sporenbildner der Fall war. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Murray, Chas., McNutt, S. H., and **Purwin, Paul,** The effect of pasteurization upon Brucella melitensis var. suis. (Journ. of Dairy Science. Vol. 5. 1932. p. 6—13.)

Bis jetzt war die Frage noch nicht geklärt, ob sich der wesentlich resistentere und virulentere Schweineabortusbazillus gegenüber der Dauerpasteurisierung ebenso hinfällig wie der vom Rind erweist. Es stellte sich heraus, daß sowohl die Rinder- wie die Schweinevarietäten der Brucella in gleicher Weise innerhalb 3 Min. bei 62—63° C abgetötet werden. Es verbürgt also die übliche Dauerpasteurisierung eine absolute Sicherheit gegenüber diesen Keimen, aber nur dann, wenn sie vorschriftsmäßig durchgeführt wird. Blieben z. B. die Deckel offen, so konnten Verff. aus dem Schaum noch nach 30 Min. Erhitzung lebende Brucella-Stämme erhalten. Ebenso erwies sich das Vorhandensein einer zweckmäßig angeordneten Klappe am Auslauf als notwendig, weil sonst wegen der verminderten Temperatur Abortuskeime am Leben bleiben.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Mussil, I., und **Smejkal, O.,** Die Verwendbarkeit von p-Oxybenzoesäureestern zur Konservierung von Milch. (Ztschr. Fleisch-, Milchhyg. Bd. 42. 1931. S. 117—119.)

Nipasol bewirkt in Milch, auch in viel geringerer als der wirksamen Konzentration starke Geschmacksveränderung; auf Bakterien wirkt es erst in höheren Konzentrationen, als bisher angegeben wurde, entwicklungshemmend und abtötend, hemmt aber gleichzeitig auch Lab, Pepsin, Katalase und Diastase, dagegen nicht Peroxydase, und hemmt wenig das proteolytische Ferment. Der Ester reagiert stark sauer, die Na-Verbindung stark alkalisch. Thies (Hannover).

Hammer, B. W., and **Yale, M. W.,** Development of the Escherichia Aerobacter-group of bacteria in butter. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. p. 199—208.)

Die Butterungsversuche wurden mit B. coli sowie mit folgenden

aus Butter isolierten Keimen der Aerogenes-Verwandtschaft angestellt: B. aerogenes, B. cloacae, B. oxytocum, sowie Citrobacter. Innerhalb 10 Tagen bei 7° C entwickelten sich typische Coli-Keime weder in der gesalzenen noch in der ungesalzenen Butter, während die Aerogenes-Vertreter zum Teil in der gesalzenen, regelmäßig aber in der ungesalzenen Butter gediehen. Eine Geschmacksbeeinflussung ließ sich nur teilweise in den mit Aerogenes versetzten ungesalzenen Proben feststellen. In 10 Tagen bei 18° C wuchsen sämtliche Spezies, die Aerogenes-Typen jedoch schneller und reichlicher als die Coli-Bakterien. Während aber bei den mit Coli versetzten Proben eine unangenehme Geschmacksveränderung nicht beobachtet werden konnte, war dies regelmäßig bei den Aerogenes-Proben der Fall, ohne Rücksicht auf gesalzen oder ungesalzen. Die Art des Geschmackes und des Geruches war genau dieselbe wie beim Wachstum dieser Keime in Milch. 2,9—20% der in 1 ccm des Rahms vorhanden gewesenen Coli aerogenes-Keime fanden sich wieder in der frischen ungesalzenen Butter. Beim Vergleich der Ergebnisse der Plattenzählung auf Eosin-Methylenblau-Agar mit denen der mikroskopischen Zählung ergab sich eine Variation von 1 : 1 bis zu 1 : 18,4.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Rogers, L. A., Ripening cheese in a sealed package. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. p. 185—189.)

Unter Anwendung einer gewissen Vorrichtung gelingt es, Cheddar-Käse unmittelbar von der Presse weg in verschlossenen Konservenbüchsen reifen zu lassen. Das Wesentliche hierbei ist eine Öffnung, die wohl Gas aus-, nicht aber Luft eintreten läßt. Am geeignetsten erwies sich ein modifizierter Bunsenverschluß. Der Käse zeigt unter diesen Umständen normale Reifung ohne Feuchtigkeitsverlust, Rindenbildung und Schimmelwachstum. Die durch diese Verpackung erhöhten Kosten werden zum größten Teil dadurch wettgemacht, daß ein Gewichtsverlust nicht eintritt und das Paraffinieren und die Kellerbehandlung wegfällt. Emmentaler kann aber auf diese Weise nicht gereift werden, ebenso ergaben sich Schwierigkeiten mit bereits gereiften Käsen. Hier muß wegen der mangelnden Kohlensäurebildung die in der Büchse vorhandene Luft durch Einleiten von Kohlensäure oder Stickstoff verdrängt werden.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Kochs und Schieferdecker, B., Der Einfluß von Fusicladium auf den Geschmack von Obstwein und Süßmost. (Konserven-Ind. Bd. 18. 1931. S. 749.)

Die Säfte von schorfkranken Früchten waren dunkler in der Farbe, kräftiger, aber nicht bitterer im Geschmack, im ganzen nicht ungünstiger als aus gesunden Früchten. Thies (Hannover).

Elion, E., Die fabrikmäßige Herstellung von Reinhefe und die Hefereinzucht in der Entwicklungsgeschichte der Brauerei. (Chem. Weekblad. Bd. 29. 1932. S. 470—475.)

Vor kurzem hat die Gesellschaft für die Geschichte und Bibliographie des Brauwesens, Institut für Gärungsgewerbe, Berlin, ein Buch „Die Hefereinzucht in der Entwicklungsgeschichte der Brauerei" herausgegeben. Das Werk enthält u. a. eine, von H. Lüers und F. Weinfurtner bearbeitete, historische Studie über die Einführung der Hefereinzucht in den

Brauereibetrieb, welche in gewissen Punkten erheblich von der Wirklichkeit abweicht, namentlich in bezug auf die bedeutende Förderung, welche die fabrikmäßige Herstellung von Reinhefe von holländischer Seite, unmittelbar nach Dänemark, erfahren hat. In der vorliegenden, in deutscher Sprache abgefaßten Arbeit beweist Verf., daß die von Dänemark ausgegangene Hefereinzucht zuerst in Holland in großem Umfang in die Praxis eingeführt wurde und daß man die rasche Verbreitung der Reinzuchthefe, namentlich auch in Deutschland, einer holländischen Brauerei zu danken hat.

L. Elion (Haag).

Remy, Th., Dhein, A., Meyers, F. und **Ohly, E.**, Bericht über 1930/31 auf Dikopshof durchgeführte Rübenlaubverwertungsversuche. (Landw. Jahrb. Bd. 74. 1931. S. 405.)

Einsäuerungsversuche mit Rübenblatt haben gezeigt, daß vollwertige Silage nur nach Wäsche, Zerkleinerung und Senkung des Wassergehaltes auf 80—85% herstellbar ist. Die Aufbereitung des Rübenblattes in geeigneten Apparaten des Alexanderwerkes ist an der Futterwirkung gemessen, wirtschaftlich lohnend. Betonsilos sind auch vom wirtschaftlichen Standpunkt aus den Erdgruben vorzuziehen, auch wenn letztere mit Pappe ausgekleidet wurden.

R. Koch (Berlin).

Kuchler, L. F. und **Wachter, H. v.**, Die Sicherung der Grünfutter-Einsäuerung durch Zusatzmittel. (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 59. 1932. S. 29; vgl. „Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz". Jahrg. 20. 1931. H. 5—6.)

Zusammenfassender Bericht über die Ergebnisse fünfjähriger Versuche im Laboratorium und im praktischen Betrieb.

R. Koch (Berlin).

Ruschmann, G. und **Gräf, G.**, Einsäuern von rohen Kartoffeln durch Einbetten in Kartoffelbrei. (Landw. Jahrb. Bd. 74. 1931. S. 447.)

Zur Verbilligung und Vereinfachung der Einsäuerung größerer Kartoffelmengen wird vorgeschlagen, rohe Kartoffeln in den Brei gedämpfter einzubetten. Es lassen sich auf diese Weise einwandfreie Silagen gewinnen.

R. Koch (Berlin).

Gutschy, Louis, Résultats obtenus dans la culture du soja avec et sans infection artificielle. (Annales agronomiques juillet-août 1931.) Rezultati poljskih pokusa cijepljenom i necijepljenom sojom (en croato-serbe avec éxtrait allemand). („Glasnik" Bulletin du Ministère de l'Agriculture. No. 35. T. 9. Belgrade 1931.)

Nach eingehender Schilderung des Versuchsfeldes, bestehend aus 28 Parzellen zu je 10 qm, von welchen je 2 Parzellen ein Paar bilden (infizierte und nichtinfizierte Parzelle), folgt die Beschreibung der versuchten Impfstoffe (Columbia, Washington, Radicin, Wien und Radicola), deren Wirkungsweise verschieden war. Vor der eigentlichen Anwendung wurden die Impfstoffbakterien auf ihre Adaptionsfähigkeit sowie Aktivität untersucht.

Beobachtungen während der Vegetationsperiode: 1. Die nichtgeimpften Pflanzen zeigen ein vorzeitiges Welken und Gelbwerden der Blätter und die Frucht eine vorzeitige Notreife. 2. Die nichtgeimpften Pflanzen sind im ganzen schwach entwickelt, die Wurzel ist einfach oder spindelförmig, die Blattfarbe licht-gelbgrün. 3. Das Laub der Geimpften zeigt dagegen

eine auffallend tief-dunkelgrüne Farbe, die Blattoberfläche und die Blattzahl sind größer als das Blatt der Nichtgeimpften. 4. Die geimpften Pflanzen überragen die nichtgeimpften an Höhe um 19—23 cm, auch zeigen sie einen viel stärkeren Habitus. — Ernteergebnis: 1. Die geimpften Pflanzen ergaben einen Mehrertrag bis zu 140% an Stroh und Frucht und einen Mehrertrag an reinem Korn bis zu 154,58%. 2. Der Stickstoffgehalt der geimpften Pflanzen überragt den der nichtgeimpften bis zu 27%. 3. Ähnlich verhält es sich auch mit dem Fettgehalt. — Vom biologischen Standpunkt erwecken besonderes Interesse die mit dem Impfstoff „Radicola" (Mischung von B. radicicola — Azotobacter chroococcum) geimpften Pflanzen. Dieselben zeichnen sich aus: 1. durch einen vollkommenen Mangel an Knöllchenbildung, 2. maximalste Wachstumssteigerung (sie überragen ihre Kontrollen an Stroh- und Fruchtgewicht bis zu 144,40%!) und 3. einen verminderten Stickstoffgehalt gegenüber den geimpften Pflanzen. 4. In ähnlicher Weise ist das Gewicht und Volumen von 100 Fruchtkörnern der mit Radicola geimpften Pflanzen stets kleiner als das ihrer Kontrollen. Die Ursache dieser Erscheinung, die an die Auximone von Bottomley und Mockeridge erinnert, wird weiter studiert. Autoreferat.

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Schander und Mitarbeiter, Berichte über das Auftreten der Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen im Bereich der Hauptstelle für Pflanzenschutz in Landsberg (Warthe). Vegetationsperiode 1929/30 und 1930/31. 146 S.

Es ist schwer, dem vielfältigen Inhalt von Tätigkeitsberichten im Rahmen eines Referates gerecht zu werden. Herausgegriffen sei folgendes: In Forsten wurden beträchtliche Schäden durch die Fichtenknospenmotte (Tinea illuminatella) festgestellt. Bekämpfung des Windhalms (Agrostis spica venti) mit Kalkstickstoff (1 Zentner je Morgen) ungefähr 4—5 Wochen nach dem Aufgehen des Getreides im Herbst ist insofern kostenlos, als zugleich eine volle Düngewirkung erzielt wird. Andere Winterunkräuter werden mit vertilgt. Hederich und Ackersenf sind in erster Linie durch richtige und ausgiebige Bodenbearbeitung vor und nach der Aussaat zu bekämpfen; nur wenn solche irgendwie nicht hinreichend erfolgen konnte, müssen chemische Mittel angewendet werden. Der Bericht enthält eine zusammenhängende Darstellung der tierischen Schädlinge im Weizenbau von G. Goetze. Entgegen der Auffassung, daß Weißährigkeit oder Weißfedrigkeit des Getreides immer auf Ernährungsstörungen zurückzuführen sei, wird gesagt, daß Haplothrips aculeatus den Weizen im Beobachtungsgebiet wiederholt stark beschädigt habe. „Doch scheint aus unseren Beobachtungen hervorzugehen, daß fühlbarer Schaden nur eintritt, wenn aus irgendeinem Grunde der Weizen während des Schossens Wachstumshemmungen erleidet." Die Notwendigkeit eines Vorhersagedienstes für die wichtigsten Schädlinge wird betont, damit uns die Kalamitäten nicht mehr als ungezügelte Naturgewalten überfallen. G. Goetze behandelt ferner die Anwendung von Ködern bei der Schädlingsbekämpfung, H. v. Oettinger die wichtigsten Schädlinge des Grünlandes. Letzterer bringt eine Bestimmungstabelle für die wichtigsten grasschädigenden Fliegenlarven, mit Abbildungen. Es folgt der Tätigkeits-

bericht der Hauptstelle für Pflanzenschutz. Ein Sachregister am Schluß erhöht den praktischen Wert des Gesamtberichtes sehr.

K. Friederichs.

Van Poeteren, N., Verslag over de werkzamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1931. Wageningen 1932. 130 p., 5 pl.

Der Bericht enthält wieder viele interessante und wichtige Einzelheiten und legt beredtes Zeugnis von der Geschäftigkeit des Pflanzenschutzdienstes in Holland ab. Hier kann nur Weniges aus dem Inhalt herausgegriffen werden. Die Milbe Tarsonemus spirifix verursachte eigenartige Verkrümmungen an Haferhalmen. In Roggenkörnern wurden Raupen des Vorratsschädlings Hofmannophila pseudopretella gefunden. Der Roggen konnte nicht vermahlen werden. Zur Bekämpfung wird Areginal genannt. Phytophthora infestans der Kartoffel trat sehr früh und heftig auf. Aaskäferlarven an Rüben schadeten mehr als sonst und wurden mit Erfolg mittels Schweinfurtergrün 1 : 1000 nebst 1 : 100 Kalk in Lösung bekämpft. Vergilbungskrankheit der Rüben — Ursache unbekannt — kann nicht mit Kupfersulfat bekämpft werden. Weißährigkeit an Schwingel durch Pediculopsis graminum, zuletzt 1928 wahrgenommen, trat wieder auf. Der Laufkäfer Ophonus pubescens verursachte ansehnlichen Schaden an Erdbeeren. Milben (Tyrophagus infestans) an jungen Tomatenpflanzen konnten durch Polvosol beseitigt werden. Genaueres wird ausgeführt über die Bakterien-Welkekrankheit der Tomaten (Erreger: Aplanobacter michiganense). Narzissenfliege in Amarylliszwiebeln. Angefressene Rosensaat aus Deutschland war offenbar durch die Chalcidide Megastigmus aculeatus beschädigt. Junge Kiefern wurden wieder stark durch den Rüsselkäfer Brachyderes incanus mitgenommen, der auch andere Bäume, selbst Obstbäume angreift. Speckkäferlarven (Dermestes lardarius) fraßen in Haferflocken und gediehen dabei sehr gut! Versuche bezogen sich u. a. auf Desinfektion von Gerste gegen Streifenkrankheit und auf das „Totspritzen" von Kartoffelkraut bei Phytophthora-Befall. Zur Saatgewinnung dienende Kohlpflanzen und andere Cruciferen konnten mit chemischen Mitteln vom Rapsglanzkäfer gesäubert werden (Schweinfurter Grün in Kalkmilch oder 2% Nicol in 1proz. Seifenlösung). Ferner: Bekämpfung von Ratten und Mäusen u. v. a. K. Friederichs.

Neuwirth, F., Schädlinge und Krankheiten der Rübe im Jahre 1931. (Ztschr. f. d. Zuckerind. d. Tschechosl. Rep. Bd. 56. 1932. S. 345—349 u. 354—357.)

Die Arbeit gibt eine Zusammenfassung über die Zuckerrübenschädlinge des Jahres 1931, die auf Grund regelmäßiger Meldungen aus den verschiedenen Rübengebieten der Tschechoslowakei aufgestellt worden ist. Die Häufigkeit der wichtigsten Schädlinge ist in ihrer Verteilung auf die einzelnen Wochen des Jahres in einem Schaubilde wiedergegeben. Die Ergebnisse sind kurz folgende: Feldmäuse waren häufig (Bekämpfung durch Mäusetyphus und Räucherpatronen). Spinnmilben (Tetranychus), Tausendfüßler (Julidae), die Maulwurfsgrille (Gryllotalpa), die Schildkäfer (Cassida nebulosa und nobilis) wurden nicht oder fast nicht beobachtet. Hingegen richteten die Aaskäfer (Silphidae)

beträchtlichen Schaden an (erfolgreiche Bekämpfung durch 6proz. Chlorbariumlösung, Laboratoriumsversuche mit Perrit-Blitol ebenfalls erfolgreich). Das Vorkommen des Moosknopfkäfers (Atomaria linearis Steph.) war mäßig. Einen größeren Schaden verursachten die Drahtwürmer (Larven des Schnellkäfers, Ela terridae; Schutzbeizung hat sich nicht bewährt) und die Erdflöhe (Halticidae). In größeren Mengen traten die Rüsselkäfer auf (Curculionidae; Massenbekämpfung mit Chlorbarium, Laboratoriumsversuche mit Perrit-Blitol bei Otiorrhynchus ligustici erfolgreich, bei Bothynoderes punctiventris Germ. ohne Erfolg. Die Zahl der Engerlinge war gegenüber dem Vorjahr auf ein Drittel herabgegangen. Die Raupen der Wintersaateule (Agrotis segetum Schiffn.) richteten ungeheueren Schaden an (noch gesunde Felder werden durch mit Kalk ausgestreute Gräben mit senkrechten Wänden geschützt Vernichtung der Raupen durch Truthühner empfohlen; wichtig ist die Entfernung des Unkrautes, auf dem häufig die Eier abgelegt werden; bei feuchter Witterung empfiehlt sich Ausstreuen von feingemahlenem Kainit; Perrit-Blitol war ohne Erfolg). Larven von Haarmücken (Bibio) waren an manchen Orten ebenfalls häufig. Die Runkelfliege (Pegomyia betae Curtis) hat infolge zeitweilig ungünstiger Witterungsverhältnisse nicht die gleiche Verbreitung gefunden wie im Vorjahr (NaF mit Rohzucker kann nicht gegen die Frühlingsgeneration, wohl aber gegen die Sommergenerationen erfolgreich angewendet werden; Einfangen der Fliege mit klebrigen Netzen empfohlen). Nematoden (Heterodera Schachtii Schmidt) waren zahlreich. Von Krankheiten waren die Herzfäule und Trockenfäule nur in einzelnen Gebieten verbreitet. Auch Cercospora beticola Sacch. trat seltener auf als im Vorjahr. Bojanovsky (Aussig).

Streeter, L. R., Mader, E. O., and Kokoski, F. J., The adherence of copper dusts to foliage. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 645—650, 1 Abb.)

Verff. stellten quantitativ die Menge fest, die von einem Gemisch von Kupfersulfat und Kalziumhydroxyd, das als Stäubemittel angewendet wurde, nach verschiedenen Zeiten noch an Kartoffelblättern haftete. Die Menge war höher, wenn auf feuchte Blätter gestäubt wurde, als wenn die Blätter bei der Behandlung trocken waren. Ein so gleichmäßiger Belag wie mit Kupferkalkbrühe konnte aber selbst an feuchten Blättern nicht erzielt werden.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Rabien, H., Beitrag zur Frage der Schädigung des Saatgutes durch Trockenbeizen. (Nachrichtenbl. f. d. Deutschen Pflanzenschutzdienst. Bd. 12. 1932. S. 61—62, 1 Abb.)

Auf Grund von Meldungen aus der Praxis über Beizschäden mit Abavit B stellte Verf. verschiedene Keimversuche mit gebeiztem Getreide an. Bei Aussaat in Ackerboden und einer Keimtemperatur von 18° C wurden auch bei Abavit B keine Schäden beobachtet. Bei 10wöchigem Halten bei Temperaturen von 0—3° C ergaben sich aber, wenn die Keimkästen dann bei 15 bzw. 10 und 5° C aufgestellt wurden, Schädigungen durch Abavit B, die sich besonders stark in einem geringen Trockengewicht der Pflanzen ausdrückten. Durch Ceresan, Tillantin R, Tutan und Germisan im Kurznaßbeizeverfahren wurden keine Schädigungen hervorgerufen.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tornow, E., Einwirkung und Nachweis des Quecksilbers bei der Beizung des Saatgutes. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 4. 1932. S. 631—637.)

Wird Getreide mit Hg-haltigen Naß- oder Trockenbeizmitteln gebeizt, so wird das Hg zum Teil als Eiweißverbindung festgelegt. Durch Waschen gebeizten Getreides in Wasser kann daher das Hg nicht entfernt werden; Verf. läßt es dahingestellt bleiben, ob die Quecksilber-Eiweißverbindungen beim Verfüttern noch giftig wirken. Von verschiedenen Seiten ausgeführte Fütterungsversuche haben aber bekanntlich gezeigt, daß gebeiztes Getreide nach vorhergehendem Waschen mit anderem Futter vermischt ohne Schaden verfüttert werden kann. Riehm (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Muyzenberg, E. W. B. van den, Onderzoek over Cladosporium cucumerinum Ellis et Arth., de veroorzaker van het vruchtvuur van de komkommer. [Untersuchungen über Cladosporium cucumerinum Ellis et Arth., die Ursache einer Gurkenkrankheit.] (Tijdschr. over Plantenziekten. 1932. Heft 5—6. S. 81—114, mit photogr. Abb.)

Die in Holland als „Vruchtvuur" bezeichnete Krankheit der Gurken, verursacht durch Cladosporium cucumerinum, befällt sämtliche Teile der Pflanzen mit Ausnahme der Wurzeln. Die Gurken zeigen vertiefte, grüne Stellen, welche von dem Pilze überdeckt sind, während auf den vertrockneten Blättern und auf den Stengeln rotbraungeränderte Flecke vorkommen.

Der Pilz überwintert sowohl in der Erde wie auf Glas und Holz der Mistbeetkasten. Die Bekämpfung der Krankheit geschieht am besten durch mäßige Heizung der Kästen, wodurch die Luftfeuchtigkeit herabgesetzt und die Sporenkeimung stark gehemmt wird. Zur Desinfizierung des Bodens wird derselbe einige Wochen vor dem Auspflanzen mit 0,4% Formalin übergossen und einige Stunden später mit derselben Menge Wasser nachgespült. Fenster und Holzwerk der Kästen desinfiziere man mit 2% Formalin im Herbst. Befallene Pflanzenteile sind sofort zu entfernen. Während des Wachstums halte man die Temperatur am Tage auf 25—30° C, in der Nacht nicht unter 15° C, während die relative Luftfeuchtigkeit 70—90% betragen soll. van Beymathoe Kingma (Baarn).

Wehlburg, C., Onderzoekingen over erwtenanthracnose. [Untersuchungen über Erbsenanthraknose.] Dissertation. Baarn (Hollandia Drukkerij) 1932. 61 S., mit mehr. Abb.

Verf. untersuchte die Anthraknose der Erbsen, welche durch drei Pilze verursacht wird, nämlich Ascochyta pisi Lib., Ascochyta pinodella Jones und Mycosphaerella pinodes (Berk. et Blox) Stone. Das Krankheitsbild ist für jeden Pilz ein anderes und wird vom Verf. ausführlich beschrieben. Alsdann werden die in Reinkultur gezogenen Pilze miteinander verglichen unter Angabe der Größe der Sporen und Pykniden. Was die Ernährungsphysiologie anbetrifft, wurde gefunden, daß Ammonsalze die besten C-Quellen sind. Für eine normale Entwicklung der Pilze sind erforderlich: ph mindestens 4, Anwesenheit von mindestens 0,1 g $MgSO_4$ pro Liter, sowie von P und S, während Ca eine stimulierende Wirkung ausübt. Düngungsversuche zeigten schließlich, daß N-, Ca- und

P-Düngung die Empfindlichkeit der Pflanzen erhöhen, während K eine entgegengesetzte Wirkung entfaltet.

van Beymathoe Kingma (Baarn).

Arnaud, G., et Barthelet, J., Recherches sur les dépérissements des arbres d'alignement. (Annales d. Epiphyties. Ann. 17. 1931. p. 249—323, 43 fig., 7 pl.)

Seit etwa 40 Jahren gehen in der Gegend von Paris die Bäume der Spezies Ailantus glandulosa und verwandter Arten an einer Krankheit zugrunde. Bäume verschiedensten Alters werden befallen. Die Krankheit äußert sich zuerst in dem Absterben einzelner Zweige. Der Erreger, Verticillium dahliae, wird genau beschrieben; er parasitiert außerdem in vielen anderen Pflanzen. Der Entwicklungskreis des Pilzes ist nicht vollständig bekannt; die konidientragende Form gehört wahrscheinlich zu einem noch nicht gefundenen Pyrenomyceten. Standortsbedingungen, Rauchschäden und andere Umstände, welche indirekte Ursachen der Erkrankung sein könnten, werden erörtert, jedoch gelangt Verf. nicht zu positiven Folgerungen. Die Ailantus sind meist bereits durch andere Baumarten ersetzt worden, da Heilung erkrankter Bäume bisher nicht gelungen ist. Im zweiten Teil der Schrift werden der Erreger des Ulmensterbens, Graphium Ulmi, und der Verlauf dieser Krankheit geschildert. K. Friederichs.

Diddens, H. A., Untersuchungen über den Flachsbrand (verursacht durch Pythium megalacanthum de Bary). (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1932. S. 291—313, 5 Abb.)

Mikroskopische Untersuchung von 32 Proben flachsbrandkranker Leinpflanzen ergab in allen Pflanzen Pythium megalocanthum, daneben in 21 Proben Asterocystis radicis, in 4 Fällen Thielavia basicola. — In Wasserkulturen riefen außer dem genannten Pythium auch P. debaryanum und P. irregulare Wurzelfäule an Flachspflanzen hervor, während Thielavia basicola die Wurzeln weder in Wasser- noch in Bodenkultur angriff. Asterocystis radicicola drang zwar in Flachswurzeln ein, rief aber keinen Flachsbrand hervor. — Reichliche N-Düngung begünstigt das Auftreten des Flachsbrandes, ebenso Thomasmehl, während bei Superphosphat-Düngung die Krankheit weniger auftrat. — Bei ph 4 wurden die Pflanzen kaum infiziert, bei ph 8 dagegen stark. Riehm (Berlin-Dahlem).

Schreiber, F., Resistenzzüchtung bei Phaseolus vulgaris. (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1932. S. 415—454.)

Mit den 17 bisher bekannten Rassen von Colletotrichum lindemuthianum und 36 verschiedenen Herkünften infizierte Verf. je 20 Pflanzen von 57 Buschbohnensorten. Es ließen sich im ganzen 34 physiologische Rassen unterscheiden, für die ein Bestimmungsschlüssel aufgestellt wird. Eine amerikanische Züchtung war gegen 30 dieser Rassen immun und gegenüber den vier übrigen sehr resistent. Im übrigen zeichneten sich die Zucker-Perlbohnen durch Widerstandsfähigkeit aus. — Die Vererbung der Resistenz beruht auf 3 voneinander unabhängigen Hauptgenen. Sämtliche Merkmale, auch die gekoppelten, lassen sich kombinieren; die Züchtung widerstandsfähiger Sorten ist möglich. Riehm (Berlin-Dahlem).

Forsteneichner, Fr., Die Jugendkrankheiten der Baumwolle in der Türkei. (Phytopath. Ztschr. Bd. 3. 1931. S. 367—412, 22 Abb.)

Unter den Erregern der Sore-shin-Krankheit wurde eine Rhizoctonia gefunden, die sich von einer an ägyptischem Material gefundenen Rh. gossypii durch die Art der Infektion, durch das Verhalten gegenüber Zellulose und das Ausbleiben von Fusionen mit Corticium vagum unterschied und als neue Varietät anatolica bezeichnet wird. Bei niedriger Temperatur (16° C) und hoher Bodenfeuchtigkeit können auch Rhizopus nigricans, Fusarium moniliforme und F. scirpi Keimpflanzen der Baumwolle infizieren. Durch Trockenbeizmittel wurden die am Saatgut haftenden Pilze gehemmt oder abgetötet und anscheinend auch die im Boden lebende Rhizoctonia bis zu einem gewissen Grade unschädlich gemacht. Riehm (Berlin-Dahlem).

Nahmmacher, J., Beitrag zur Immunitätszüchtung der Gerste gegen Ustilago nuda forma spec. hordei. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 4. 1932. S. 597—630.)

Sporen des Gerstenflugbrandes, die im freien Raum trocken in den erkrankten Ähren aufbewahrt waren, behielten ihre Keimfähigkeit 10 Monate, während ausgeklopfte, in Pergamintüten aufbewahrte Sporen ihre Keimfähigkeit in wenigen Wochen einbüßten. Versuche, entspelzte Körner nach der Methode von Tisdale und Tapke zu infizieren, hatten ein völlig negatives Ergebnis, deshalb wurde zur Prüfung von Gerstensorten auf Flugbrand-Anfälligkeit die Blüteninfektion mit Hilfe einer Injektionsspritze ausgeführt. Hochresistent war die Mehrzahl der ausländischen Nacktgersten vom Inaequale-Typ, am anfälligsten die Sommergersten vom Nutans-C-Typ. Die Untersuchung von 45 Flugbrandherkünften ergab, daß man zwei biotopische Rassen unterscheiden kann, von denen die Sommergerstenherkunft stärkere Virulenz besitzt als die von Wintergerste stammende Form. Riehm (Berlin-Dahlem).

Feucht, W., Die Wirkung des Steinbrandes Tilletia tritici (Bjerk.) W. und Tilletia foetens (Berk. et Curt.) Tul. auf verschiedene Winterweizensorten bei künstlicher Infektion in ihrer Abhängigkeit von äußeren Faktoren. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 4. 1932. S. 247—290.)

Tilletia foetens wurde in Thüringen nachgewiesen. Die Form der Brandbutten unterscheidet sich nicht von denen der Tilletia tritici; Infektionsversuche zeigten, daß die Form der Butten von T. tritici von der sortentypischen Größe der Weizenkörner abhängt. Das Vorkommen verschiedener physiologischer Rassen von Tilletia tritici wurde bestätigt, ebenso die Abhängigkeit des Stinkbrandauftretens von Temperatur, Bodenart, Düngung. Riehm (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G., Über Verschiebungen der Rostresistenz während der Entwicklung der Getreidepflanzen. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 4. 1932. S. 549—596.)

Die Beobachtungen über die Anfälligkeit verschiedener Getreidearten gegenüber Rostpilzen wurden im Freiland an Pflanzen ausgeführt, die aus 14 verschiedenen Aussaaten hervorgegangen waren. Zur Zeit der Beobachtung waren also Pflanzen der verschiedensten Entwicklungsstadien vorhanden.

Bei Weizen zeigte sich eine Jugendanfälligkeit gegenüber Pucc. triticina, die sich bei Beginn des Schossens mehr oder weniger verlor; alternde Blätter waren wieder anfälliger. Umgekehrt sind junge Weizenpflanzen gegenüber Pucc. graminis widerstandsfähiger als ältere Pflanzen. Auch bei Pucc. coronifera findet man mit zunehmendem Alter der Wirtspflanze eine Erhöhung der Anfälligkeit, wenn auch nicht in dem gleichen Maße wie bei Pucc. graminis. Werden Getreidesorten im Gewächshaus auf ihre Anfälligkeit geprüft, so sind die Infektionsbedingungen günstiger; infolgedessen ergeben solche Versuche mit Keimpflanzen nur bei Pucc. graminis und Pucc. coronifera ein annäherndes Bild von der Anfälligkeit älterer Pflanzen im Freiland, während bei Pucc. triticina meist ein zu ungünstiges Bild erhalten wird.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Loos, W., Über eine buchenbewohnende Ceratostomella, Ceratostomella fagi nov. spec. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 370—383.)

Im Verlaufe von Untersuchungen über die „Stockfäule" des Buchenholzes wurde beim Auslegen steril entnommener Holzproben eine bisher unbekannte Ceratostomella gefunden, die an Häufigkeit des Vorkommens nach Hypoxylon coccineum Bull., Valsa spec., Stereum purpureum Pers. an vierter Stelle stand (in 17% der untersuchten Fälle). Sie erhält den Namen C. fagi nov. spec. In Kultur entwickelten sich meist nur die Nebenfruchtformen, Cladosporium-ähnliche Konidien und Graphium-Fruchtkörper, in einigen Fällen auch Perithecien. Von den nahestehenden Formen C. piceae Münch und C. Schrenkiana Hedgcock unterscheidet sie sich vornehmlich in Größe der Askussporen (2,5—3,5—4,7 μ lang, 0,7—1,0—1,2 μ breit) und der Zilien des Perithecium-Schnabels (12—58 μ lang, 1—2 μ dick), von der erstgenannten auch physiologisch (geringere Wachstumsgeschwindigkeit auf Holzextrakt).

Der Pilz zerstört Zellulose und Holz nicht, ruft aber, durch Angriff auf den Zellinhalt, eine Braunfärbung des Buchenholzes hervor. Er wächst auf diesem sehr gut, ziemlich gut auf Fichten-, sehr schlecht auf Kiefernholz, vermag Kiefernholz aber zu verblauen. Er wächst noch bei 4—6% Sauerstoffkonzentration, wobei allerdings der Farbstoff der Graphium-Stiele nicht mehr ausgebildet wird. Er verträgt sehr hohe Säurekonzentrationen (die Konidien keimen noch bei ph 2,2) und bildet selbst kräftig Säure. Die Abhängigkeit des Wachstums von der Wasserstoffionen-Konzentration soll eine 2gipflige Kurve ergeben.

Rippel (Göttingen).

Ark, P. A., The behavior of Bacillus amylovorus in soil. (Phytopath. Vol. 22. 1932. p. 657—660.)

Die Frage, ob Bac. amylovorus längere Zeit im Boden vegetieren kann, ohne seine Virulenz einzubüßen, entscheidet Verf. durch zahlreiche Reisolierungen des Bazillus aus künstlich und natürlich infizierten Böden. Die so gewonnenen Reinkulturen riefen, in grüne Birnenfrüchte und in Triebe von Cotoneaster eingeimpft, das typische Krankheitsbild hervor. Demnach kann Bac. amylovorus in trockenen oder schwach feuchten Böden mindestens mehrere Wochen überdauern. Im Laboratorium hielt er sich in sterilisiertem Boden bis 54 Tage und in nichtsterilisiertem bis 38 Tage.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Allen, T. C., and Riker, A. J., A rot of apple fruit caused by Phytomonas melophthora n. sp., following invasion by the apple maggot. (Phytopath. Vol. 22. 1932. p. 557—571.)

Als Begleiter der Made von der Apfelfruchtfliege (Rhagoletis pomonella) wird ein Bakterium morphologisch und physiologisch eingehend untersucht und beschrieben und Phytomonas melophthora n. sp. benannt. Es wird offenbar durch die Apfelfruchtfliege verschleppt und bewirkt, sich im Apfel von den Fraßgängen der Made ausbreitend, eine Fäule, durch die das Zerstörungswerk der Maden beschleunigt und vervollständigt wird. Bortels (Berlin-Dahlem).

Elze, D. L., Die Übertragbarkeit mit dem Samen von Aukuba-Mosaik sowie Blattroll (Phloemnekrose) der Kartoffel. (Phytopath. Ztschr. Bd. 3. 1931. S. 449—457, 7 Abb.)

Samen blattrollkranker Pflanzen ergaben z. T. wieder deutlich kranke Pflanzen, z. T. aber Sämlinge, die fast keine Blattrollsymptome zeigten. Bei Pfropfversuchen erwiesen sich diese Sämlinge als Träger des Blattroll-Virus. — Aus den Samen Aukuba-mosaikkranker Pflanzen gewonnene Sämlinge zeigten zwar virotische Erkrankungen; diese konnten aber nicht immer durch Pfropfung übertragen werden. Riehm (Berlin-Dahlem).

Stahel, G., Zur Kenntnis der Siebröhrenkrankheit (Phloëmnekrose) des Kaffeebaums in Surinam. II. (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1932. S. 539—544, 5 Abb.)

Die bisher nur in Surinam bekannte Phloemnekrose des Kaffeebaums konnte Verf. auch an konserviertem Material aus Demerara und aus Nord-Brasilien nachweisen. Riehm (Berlin-Dahlem).

Thung, T. H., De krul- en kroepoekziekten van tabak en de oorzaken van hare verbreiding. [„Krul"- und „Kroepoek" Krankheiten des Tabaks und die Ursachen ihrer Verbreitung.] Meded. No. 72, Proefstation voor Vorstenlandsche Tabak. Klaten (Java) 1932. 50 S., mit vielen Abb.

Die „Krul"- und „Kroepoek"-Krankheiten des Tabaks sind schon lange bekannt und auch in anderen Ländern wahrgenommen, u. a. erwähnen Peters und Schwartz dieselben aus Dalmatien, wo sie unter dem Namen „Faltenzweig" zusammengefaßt werden. Die Krankheiten äußern sich hauptsächlich durch Kräuseln der Blätter und unregelmäßigen Verlauf der Blattnerven, welche oft Auswüchse zeigen. Bei genauerer Beobachtung lassen sich nach Verf. drei Krankheitstypen unterscheiden, welche ausführlich beschrieben werden. Die Ursache ist ein Virus, welches durch direkte Überimpfung, nicht aber durch Preßsaft, auf gesunde Pflanzen übertragen werden kann. Indessen zeigte Verf. durch Versuche, daß diese Übertragung nicht durch die Samen kranker Pflanzen geschieht, sondern durch Insekten, und zwar aus der Gattung Aleurodidae. Festgestellt wurde weiter, daß das Virus auch in anderen Pflanzen, wie z. B. Tomaten, Nicotiana glauca, Nicotiana rustica u. a. m. anwesend sein kann. Insofern dergleiche Pflanzen in der Nähe der Tabakpflanzungen wachsen, kann von hier aus durch die genannten Insekten eine Infektion stattfinden, wobei

die jüngeren Tabakpflanzen am meisten anfällig sind. Verf. beabsichtigt, das Leben dieser Insekten genauer zu studieren, denn erst wenn hierüber nähere Einzelheiten bekannt sind, kann eine erfolgreiche Bekämpfung durchgeführt werden. van Beymathoe Kingma (Baarn).

Tierische Schädlinge.

Bally, W., Bemesting van koffietuinen, die door aaltjes besmet zijn. Voorlopig verslag. (Arch. Koffiecultuur Nederl. Indië. Jaarg. 6. 1932. p. 43—56, 1 pl.)

Die vorläufig nur in einer Pflanzung angestellten Versuche haben deutlich ergeben, daß man Kaffeepflanzen in mit Nematoden verseuchtem Boden durch Düngung über die ersten, gefährdeten Jugendstadien hinweghelfen kann. Die Versuche deuten darauf hin, daß neben Stickstoff auch Phosphor günstig wirkt, doch haben diese Ergebnisse zunächst nur eine örtliche Bedeutung; es scheint darauf anzukommen, welcher Nährstoff im Minimum ist.

K. Friederichs.

Schimitschek, E., Beobachtungen bei dem Auftreten und der Bekämpfung der Kieferneule, Panolis flammea Schiff., in Nieder-Österreich 1930 und 1931. (Centralbl. ges. Forstwesen. Jahrg. 57. 1931. S. 321—406.)

Die von der Forleule befallenen Bestände gehörten insbesondere zur Altersklasse III; auch Altersklasse IV war auf größerer Fläche befallen, weniger V. Ein Vergleich des Klimatogramms des Gebietes mit denen der reichsdeutschen Kieferneulengebiete zeigt auffallende Ähnlichkeit beider. Den Untersuchungen mußten in Ermangelung einer meteorologischen Station im Befallsgebiet die Daten des Großklimas zugrunde gelegt werden. Es wird ausgeführt, inwiefern die Verhältnisse im Bestand davon abweichen; u. a. liegt die relative Feuchtigkeit im Bestand höher als im Freiland. Die die Gradation fördernden klimatischen Verhältnisse in den für die Forleule kritischen Monaten der Jahre 1929, 1930 und 1931 werden dargestellt und es wird auf Grund dessen ausgesagt, daß die Großklimadaten eine Prognose der Kalamitäten künftig zulassen werden. Zur Bekämpfung diente Calciumarsenat, mit dem Motorverstäuber auf die Kronen gebracht. Die Ergebnisse waren durchweg befriedigend. Andere Insekten sowie Wirbeltiere schienen durch die Bestäubung nicht geschädigt zu werden. Die Kosten betrugen 83 Schilling je Hektar, d. h. 37 Sch. weniger als Streurechen gekostet haben würde. Unter den Parasiten der Kieferneule überwog die Tachine Panzeria rudis, einigermaßen häufig war noch Banchus femoralis; sonstige Parasiten traten nur vereinzelt auf. Die Tachine hat viele Hyperparasiten. Von Mycosen gab es nur Isaria farinosa.

K. Friederichs.

Berichtigung.

In der Veröffentlichung von M. Löweneck, „Untersuchungen über Würzebakterien" in Bd. 87 muß es in Tab. 5, S. 53 lauten:

statt	W 5	1,5	1,5	4,46	4,41
richtig	W 5	1,3	1,3	4,46	4,41
und statt	W 9	2,2	2,4	4,28	4,19
richtig	W 9	2,2	2,0	4,48	4,39

Abgeschlossen am 26. November 1932.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 87. No. 13|16.
Ausgegeben am 10. Januar 1933.

Nachdruck verboten.

Concerning the Reproduction of Bacteroids[1].

[University of Wisconsin College of Agriculture, Madison, Wisconsin.]

By Lois Almon.

The question of the nature of the swollen forms of the root nodule bacteria, known as bacteroids, has received considerable attention by many who have worked on leguminous root nodules. At one time the bacteroids were considered to be important in the process of nitrogen fixation (Nobbe and Hiltner, 1893) and were studied from this point of view. The problem of their function in this process is still unsolved. Even more attention has been devoted to their possible place in the life history of the root nodule organism; that is, whether they are to be looked upon as necessary stages in an ever recurring sequence in which one form gives rise to another, or whether they are to be looked upon as forms which have outlived their usefulness and are taking on bizarre shapes as they approach death. Both views have support in the literature.

The earliest interpretations of the nature of the bacteroid were based on the prevalent misconception concerning the fungous nature of the nodule organism. They were the spores of the fungus according to Kny, 1879, and Prillieux, 1879. Even as late as 1890 the fungus idea persisted, and Laurent, in that year, described the bacteroids as bodies budded off from the hyphae.

The term, bacteroid, was meant to designate a bacterium-like structure, for Brunchorst, 1885, who coined the word, thought that the peculiarly shaped structures which he found so abundantly in nodules were bodies elaborated by the plant for the storage of proteins. Beijerinck, 1888, proved their bacterial nature by showing them present in pure cultures of his Bacterium radicicola in artificial media.

There followed the long and still unfinished controversy as to whether the bacteroid is a viable stage in the life history of the root nodule bacteria or whether it is incapable of reproduction. The complexity of the life cycle conception varies with the different workers. It will not be possible to go into the details of the proposed cycles as given by all of them.

Prazmowski's explanation of 1888 is very simple. He says that the bacteroids produce simple rods which, in turn, give rise to new bacteroids. He claims, in his paper of 1890, to have proved this by culture work. The description of the method of reproduction, if it can be called such, given by Mazé in 1898 is similar. The branched forms, according to this report, return to the simple rod form with the withdrawal of the plant sap from the nodule at the end of the growing season. Gage,

[1] Published with the approval of the Director of the Wisconsin Agricultural Experiment Station.

1910, says too that the branched forms may retrogress to the earlier stage of bacillus, if submitted to a change of conditions. He goes farther, however, in saying that in liquid media the number of bacteroids soon becomes considerably diminished by the division of the latter into small motile forms.

This idea of the breaking of the bacteroid into several units which are either liberated through a ruptured membrane or broken directly off the parent, and which are the precursors of the motile coccoid form, is probably the one most commonly expressed. It is given with minor variations by Morck, 1890, Nobbe and Hiltner, 1893, Frank, 1889, Neumann, 1902, Hiltner, 1903, Peklo, 1910, Greig-Smith, 1911, Burrill and Hansen, 1917, Bewley and Hutchinson, 1920, Thornton and Gangulee, 1926, Gangulee, 1926, and Thornton, 1930. More complex changes, involving a symplastic state or other stages than the ones already mentioned, are described in the papers of Hartleb, 1900, de Rossi, 1907, Löhnis and Smith, 1916, Káš, 1927, Gibson, 1928, and Schönberg, 1929. A few of those who have aligned themselves with the life cycle camp give no details as to the method of reproduction which they consider characteristic of the bacteroid. Stutzer, 1901, Moore, 1905, and Zipfel, 1911, for example, state merely that it is not a degeneration form. Buchanan, 1909, and Pfeiffer, 1928, add that it is a response to the conditions of the environment.

The evidence given by the workers mentioned is preponderantly the result of microscopic examination. Reports of new cultures which have arisen from sources which preclude the possibility of any form other than the bacteroid do not exist. De Rossi, 1907, is one of the few who claim to have watched colonies arise from bacteroids. According to his report, bacilli are eventually produced from a symplastic mass which is formed from the coalescence of the bacteroids. For many days the number of new individuals is not sufficient to produce a visible colony. From twelve days to one month, depending partly upon the type of medium used, must elapse before the colony becomes of pin-point size.

On the other hand, the evidence against the viability of the bacteroid is drawn more from attempts at cultivation. Even before Beijerinck had shown the swollen forms to be bacterial in nature, Tschirch, 1887, tried and failed to bring about their multiplication in artificial media. Wigand, 1887, also said that they showed no evidence of reproduction, and hence were probably deformed structures developed from simple rods and incapable of further development. Lewis and Nicholson, 1905, noticed that few colonies appeared on plates made from nodules or cultures containing a high percentage of bacteroids, and concluded therefore that these forms did not give rise to colonies.

The work of Müller and Stapp, 1925, was the nearest approach to single cell work of any reported. They marked individual bacteroids on cover glasses with India ink and observed them microscopically at intervals during the incubation period of 72 hours. No changes were seen, although the medium employed was supposedly favorable for the reproduction of the root nodule forms. On the basis of this evidence they called the bacteroids "teratologische Formen".

Among the investigators adhering to the doctrine of non-viability were also a few who based their views on less substantial evidence. Beijerinck,

1888, was probably of this number, for although he described the bacteroids as being incapable of multiplication he gave no detailed description of work to prove it. Atkinson, 1893, certainly was, for by purely a priori reasoning he came to the conclusion that fully formed bacteroids were no longer able to grow and reproduce. Štefan, 1906, who called them involution forms, probably belongs here also.

There remain a few investigators who were not definitely on one side or the other. For example, Schneider's earliest experiments, 1892, designed to induce reproduction, failed. The following year he became more hopeful, saying that bacteroids could be cultivated with difficulty; but his experiments had not been completed when the report was made. Cappelletti, 1926, thought that most bacteroids were incapable of reproduction, but that in a few cases there might be a tendency for the bacteroids to transform themselves into forms similar to spore bearing cells. Bazarewski, 1927, believed that very young bacteroids might still be able to transform themselves into simple rods such as those from which they arose; that otherwise they did not reproduce.

Experiments.

With the development of the modified Chambers micromanipulator which has made possible the isolation of individual organisms with a reasonable degree of certainty, new possibilities have arisen for the study of bacteroid reproduction. Incubation of bacteroids in media favorable for the reproduction of the rod forms of Rhizobium might be expected to allow the reproduction of the swollen or vacuolated forms as well, if these are really able to produce new individuals. In order to test this possibility, single bacteroids were isolated by the method described by Wright and McCoy, 1927. The suspensions containing the bacteroids were made up in most cases from the contents of nodules of pea, red clover, or alfalfa plants which had grown in the greenhouse under bacteriologically controlled conditions. In a few cases nodules from plants in the open were used. The nodules were of various ages when used. Also, some organisms were isolated from laboratory cultures, as well, primarily for check purposes.

Many media were used, but the formulae for all were based upon four standard types. These were (1) yeast water-mannitol, (2) soil extract-mannitol, (3) navy bean seed extract-sucrose, and (4) alfalfa root extract-sucrose. The formulae for the first three have been published by Fred and Waksman, 1928. The last is the one generally in use at the Rothamsted Experiment Station. The various modifications were efforts to provide a variety of nutritive conditions and changes in the oxidation-reduction potential; (see Allyn and Baldwin, 1930). The dilution to twice the original volume for one series was suggested by the work of Robertson, 1924, in which multiplication of protozoa was encouraged by dilute solutions. The following list gives the media with their principal constituents. Quantities are on the liter basis.

Yeast water-mannitol:
Yeast water . . . 100 cc.
Mannitol . . . . 10 gms.
Salts as in standard formula.

Yeast water-mannitol: modification 1.
Above medium diluted to twice the original volume.

Yeast water-mannitol: modification 2.
Yeast water . . . 180 cc.
Mannitol . . . . 2 gms.
Salts as in standard formula.

Yeast water-mannitol: modification 3.
Yeast water . . . 180 cc.
Mannitol . . . . 10 gms.
Salts as in standard formula.

Soil extract-mannitol:
Soil extract . . . 100 cc.
Mannitol . . . . 10 gms.
K_2HPO_4 . . . . . 0.5 gm.

Soil extract-mannitol: modification 1.
Above medium plus 100 cc. yeast water.

Navy bean seed extract-sucrose:
Bean seeds . . . 10 gms.
Sucrose . . . . . 10 ,,
$CaCO_3$ . . . . . 5 ,,

Alfalfa extract-sucrose, formula in full:

Root extract (4 g. dry matter per liter) . . .	500 cc.
Sucrose	10 gms.
$CaCO_3$	5 ,,
K_2HPO_4	1 gm.
$MgSO_4 . 7\ H_2O$	0.2 gm.
NaCl	0.1 ,,
$CaCl_2$	0.1 ,,
$FeCl_3$	0.02 gm.
Water	500 cc.

Agar 12 gms. in all cases in which it was used.

The organisms were transferred in about one half of the cases to hanging drops of the media (Wright and Nakajima, 1929). In some cases a melted agar medium was used to make the drop. This, of course, congealed immediately upon the cover glass. By touching the micro-pipette containing the single organism to the edge of such a drop the liquid in the pipette and the organism with it was deposited on the agar. This method of incubating single cells in small quantities of medium has been found by other workers in this laboratory to be most successful for a variety of organisms from the standpoint of the number which reproduced. The cover glasses used were sealed with vaseline to slides containing deep wells. Moisture conditions in the well were regulated by placing a drop of sterile liquid medium in the bottom. These cultures were incubated at 28° C. for three weeks or longer, unless they showed indications of multiplication of the organism before the end of that period. Microscopic examinations of the drops to detect reproduction were made daily for the first week, and once a week after that.

The other half of the organisms isolated were incubated in media in serological tubes. In those instances in which agar was used in the medium, the tubes were slanted, and the organism was planted in the butt of the tube. The method of transferring the organism to the media was to break off the tip of the micro-pipette.

Cultures obtained were tested on potato slants and in litmus milk for purity. The number of organisms isolated and the number which reproduced are reported in Table I. No separation is made of the organisms cultivated in the hanging drops and those cultivated in the serological tubes since the results of the two methods were very similar.

In interpretation of the data, a definition of the term, bacteroid, as it is used here, may be of value, since there seems to be some confusion regarding its meaning. It is generally conceded that the swollen branched forms may be called by this name, but whether the meaning should be broadened to include enlarged, vacuolated, rod forms is disputed. Dangeard, 1926, has applied the name only to the branched forms. This seems to the author undesirable in view of the fact that many effective nodules possessed of the tightly packed plant cells composing what is generally known as bacteroid tissue may contain chiefly swollen or elongated, vacuolated rods, with very few branched organisms. For the purpose of this report, therefore, the term bacteroid, will be used in the sense of Hiltner and Störmer, 1903, namely, a form somewhat increased in size over the usual rods and possessed of vacuoles. This usage does not preclude its application to the branched forms. It has been questioned by some, notably Zipfel, 1911, and Barthel, 1921, whether bacteroid-like organisms obtained in culture media are physiologically like those in nodules. That can not at present be answered. Until more is known on the subject, the term must then be used in a morphological rather than a physiological sense. Those bacteroids here reported to have come from artificial cultures were produced in a soil extract medium in which 1 per cent glycerol had been substituted for mannitol. A similar medium was found favorable by Buchanan, 1909, for the production of bacteroids.

Laboratory media might be criticized as offering too artificial an environment to promote the growth and normal behavior of the single cells. The environment of the growing plant was therefore chosen as being perhaps a more natural one. If there are any plant excretions which stimulate Rhizobium activity, the bacteroids might be induced to respond under such conditions.

The organisms which were incubated in the environment of the growing plant were isolated in the usual manner. The red clover and alfalfa plants were grown from seeds which had been treated with strong chloride of lime solution for ten minutes and with mercuric chloride solution 1 : 1000 for five minutes. Longer periods of exposure to these disinfectants were sometimes found to be injurious to the embryo. A modified Crone's solution, Bryan, 1922, to which 0.8 per cent agar had been added was used as nutrient in most of the series of experiments. A few of the plants were also grown in the yeast water-mannitol agar medium, because it was thought that this might be more favorable for the reproduction of the organism and subsequent infection of the plant. The plants grew in test tubes of three-fourths inch diameter; one plant in each tube. At intervals varying from two to fourteen days after the date of planting the plants were inoculated by breaking off the tip of the micro-pipette, with a single bacteroid or a single rod isolated from other plants of the same species. One-fourth cc. of liquid yeast water-mannitol medium was added to facilitate exit of the organism from the pipette tip. Some plants were left uninoculated, as controls. Observations were then made from time to time for nodule formation. After eight weeks the plants were discarded.

No nodules were produced on any of the plants in test tubes. Sixteen had been inoculated with rods and forty-two with bacteroids. There were thirty-two uninoculated controls.

It is notoriously difficult to obtain reproduction of some microbes in

the absence of others of the same species. It was thought that perhaps bacteroids were individuals which needed the cooperation of others — either rods or bacteroids — for their proper development. In order to furnish an environment containing additional individuals and at the same time one which permitted the observation of forms known to be bacteroids, use was made of the single cell method described by Avery and Leland, 1927. Their procedure consists of locating, by means of the microscope, cells of known contour on the lower surface of a thin layer of agar spread upon a square-ruled cover glass. Some of the cover glass squares bear numbers by means of which the cells under observation may be exactly located and mapped. Instead of the brass rings used by Avery and Leland as supports for the cover glasses, paraffin rings were used as a matter of expedience. These were sterilized in a strong hypochlorite solution. It is necessary for the use of this method that the agar medium be perfectly clear in order that the bacteria on its surface may be seen distinctly. To obtain this condition the medium was filtered while hot through a Berkefeld candle, also hot, immediately before application to the cover glasses. The medium used was yeast water-mannitol agar, modified in some of the trials by the omission of $CaCO_3$ and NaCl and the substitution of $CaCl_2$, pH being adjusted to 7.0 by NaOH. By such modification the process of filtration was facilitated. Seventy-five bacteroids and fourty-four rods from clover nodules were located by this method. Four of the rods produced colonies, but the bacteroids could be seen unchanged four days after they had been originally located.

Table 1. Record of single cell isolation and of reproduction of root nodule bacteria[1]).

Media	Bacteroids from nodules		Normal rods from nodules	
	No. isolated	No. multiplied	No. isolated	No. multiplied
Yeast water-mannitol:				
Agar	129	0	55	11
Liquid	92	1	39	9
Modification 1. Agar	16	0	18	0
Modification 2. Agar	18	0	10	1
Modification 3. Agar	8	0	3	0
Soil extract-mannitol liq.	6	0	5	0
Modification 1. Agar	13	0	2	0
Navy bean extract—sucrose:				
Agar	9	0	4	1
Liquid	10	0	3	0
Root extract agar	75	0	1	0
Liquid	35	0	23	3
Total	411	1	163	25
	Bacteroids from cultures		Rods from cultures	
Yeast water-mannitol:				
Agar	0	0	25	11
Liquid	10	1	58	11
Total	10	1	83	22

[1]) 274 of the bacteroids and 60 of the rods were isolated and incubated by Dr. Elizabeth McCoy.

Discussion.

The table reports that one bacteroid from a nodule reproduced. Weighed against the evidence of 410 which did not, it would seem that this might have been a mistake. The criticisms of the micromanipulator method of isolating single cells as set forth by Hort, 1920, would lead one to believe that the method has little value. It is possible that some of the difficulties he mentions are worthy of consideration. It is quite possible, for example, for a drop to contain two organisms, only one of which is seen. Unless the operator keeps all of his drops under rigid observation, a cell in one of them may wander to the edge where it is lost from view, and the drop may then appear to contain but one organism. While care was taken that this should not happen in the work here reported, it is possible that a few lapses occurred, and that a rod was present along with the bacteroid in the case in which reproduction occurred.

Bacteroids produced in artificial media are more difficult to recognize if the branched forms do not predominate. The suspension used for this work contained many vacuolated individuals, but only a few branched ones. Vacuolation in unstained bacteria, even though they be large, is hard to recognize. Hence it may be that the "bacteroid" which reproduced, isolated from a medium containing glycerol, was not such a bacteroid as would have been found in a nodule. It was a pea organism. The bacteroids of this species are usually branched.

The two doubtfully positive results reported in Table I are therefore discounted. The number of negative results arising from the three methods tried is overwhelmingly large. Hence it can safely be concluded that bacteroids, if they reproduce at all, do not do so with as great facility as rods under the conditions offered them.

Summary.

1. Of 411 bacteroids isolated from nodules by the modified Chambers micro-manipulator and incubated in various media supposedly favorable for the multiplication of Rhizobium spp., only one gave evidence of reproduction. This one case is discounted on the grounds of possible experimental error.

2. Forty-two bacteroids and sixteen rod forms used for the individual inoculation of seedling plants grown under bacteriologically controlled conditions gave no evidence of multiplication or nodule formation.

3. Seventy-five bacteroids located on ruled cover glasses by the method of Avery and Leland, 1927, could be observed unchanged four days after they had been taken from the nodules, and gave no evidence of reproduction after that period.

4. It is concluded that bacteroids, if they reproduce at all, do not do so with as great facility as rod forms under the conditions offered.

The author acknowledges with gratitude the helpful suggestions given by E. B. Fred and Elizabeth McCoy, and the data included in Table I which were furnished by the latter.

Bibliography.

Allyn, W. P., and Baldwin, I. L., The effect of the oxidation-reduction character of the medium on the growth of an aerobic form of bacteria. (Journ. Bact.

Vol. 20. 1930. p. 417—440.) — Atkinson, G. F., Contribution to the biology of the organism causing leguminous tubercles. (Bot. Gaz. Vol. 18. 1893. p. 157—166, 226—237, 257—266.) — Avery, R. C., and Leland, S. J., A simple method for the isolation of pure cultures from single bacterial cells. (Journ. Exp. Med. Vol. 45. 1927. p. 1003—1007.) — Bazarewski, S., Badania nad bakteroidami. (Roczniki Nauk Rolniczych i Leśnych. Bd. 17. 1927. S. 1—34.) — Beijerinck, M. W., Die Bakterien der Papilionaceenknöllchen. (Bot. Zeit. Bd. 46. 1888. S. 726—735, 741—750, 757—771, 781—790, 797—804.) — Bewley, W. F., and Hutchinson, H. B., On the changes through which the nodule organism (Ps. radicicola) passes under cultural conditions. (Journ. Agr. Sci. [England]. Vol. 10. 1920. p. 144—162.) — Brunchorst, J., Über die Knöllchen an den Leguminosenwurzeln. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 3. 1885. S. 241—257.) — Bryan, O. C., Effect of reaction on nodule formation. (Soil Sci. Vol. 13. 1922. p. 279.) — Buchanan, R. E., The bacteroids of Bacillus radicicola. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 23. 1909. S. 59—91.) — Burrill, T. J., and Hansen, R., Is symbiosis possible between legume bacteria and non-legume plants? (Ill. Agr. Expt. Sta. Bul. No. 202. 1917.) — Cappelletti, C., La forma a bacteroide e l'immunita nelle Leguminose. (Rend. d. R. Accad. Nat. d. Lincei Classe d. Sci. Fis. Mat. e Nat. An. 6. 1926. p. 533—537.) — Dangeard, P. A., Recherches sur les tubercules radicaux des Legumineuses. (Le Botaniste. T. 16. 1926. p. 3—270.) — Frank, B., Über die Pilzsymbiose der Leguminosen. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 7 . 1889. S. 332—346.) — Gage, G. E., Biological and chemical studies on nitroso bacteria. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 27. 1910. S. 7—48.) — Gangulee, N., Studies on the lucerne nodule organism (B. radicicola) under laboratory conditions. (Ann. App. Biol. Vol. 13. 1926. p. 360—373.) — Gibson, T., Observations on B. radicicola Beijk. (Journ. Agr. Sci. [England]. Vol. 18. 1928. p. 76—89.) — Greig-Smith, R. The slime or gum of Rhizobium leguminosarum. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 30. 1911. S. 552—556.) — Hartleb, R., Die Morphologie und systematische Stellung der sog. Knöllchenbakterien. (Abs. in Chem. Zeit. Bd. 24 (2. sem.). 1900. S. 887—888.) — Hiltner, L., Über die biologische und physiologische Bedeutung der endotrophen Mycorrhiza. (Naturw. Ztschr. Land- u. Forstw. Bd. 1. 1903. S. 9—25.) — Hiltner, L., und Störmer, K., Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen und deren Erreger. (Arb. K. Gesundheitsamt, Biol. Abt. Bd. 3. 1903. S. 151—307.) — Hort, E. C., The cultivation of aerobic bacteria from single cells. (Journ. Hyg. Vol. 18. 1920. p. 361—368.) — Káš, V., Über die Entwicklungszyklen der Knöllchenbakterien. (Věstnik Československé Akad. Zemědělské. Bd. 3. 1927. S. 584—588.) — Kny, L., Zu dem Aufsatz des Herrn Prof. B. Frank, „Über die Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen". (Verh. Bot. Ver. Prov. Brandenburg. Bd. 21. 1879. S. 115—118.) — Laurent, É., Sur le microbe des nodosités des Legumineuses. (Compt. Rend. Acad. Sci. [Paris]. T. 111. 1890. p. 754—756.) — Lewis, L. L., and Nicholson, J. F., Soil Inoculation. Tubercle forming bacteria of the legumes. (Okla. Agr. Expt. Sta. Bul. No. 68. 1905. p. 1—30.) — Löhnis, F., and Smith, N. R., Life cycles of the bacteria. (Journ. Agr. Res. [U. S.]. Vol. 6. 1916. p. 675—702.) — Mazé, M., Les microbes des nodosités des Legumineuses. (Ann. Inst. Pasteur. T. 12. 1898. p. 1—25, 128—155.) — Möller, H., Bemerkungen zu Franks Mitteilung über den Dimorphismus der Wurzelknöllchen der Erbse. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 10. 1892. S. 242—249.) — Moore, G. T., Soil inoculation for legumes. (U. S. D. A. Bur. Plant Indus. Bul. No. 71. 1905. p. 1—72.) — Morck, D., Über die Formen der Bakteroiden bei den einzelnen Spezies der Leguminosen. Inaug.-Diss. Leipzig 1891. 44 S. — Müller, A., und Stapp, C., Beiträge zur Biologie der Leguminosenknöllchenbakterien, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. (Arb. Biol. Reichsanst. Land. u. Forst. Bd. 14. 1925. S. 455—554.) — Neumann, P., Die Bakterien der Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Landw. Vers. Sta. Bd. 56. 1902. S. 187—202.) — Nobbe, F., und Hiltner, L., Wodurch werden die knöllchenbesitzenden Leguminosen befähigt, den freien atmosphärischen Stickstoff für sich zu verwenden? (Landw. Vers.-Stat. Bd. 42. 1893. S. 459—478.) — Peklo, J., Die pflanzlichen Aktinomykosen. (Ein Beitrag zur Physiologie der pathogenen Mikroorganismen.) (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 27. 1910. S. 451—579.) — Pfeiffer, H., Die Stickstoffsammlung und die aus ihr zu ziehenden Rückschlüsse auf die Formengestaltung der Knöllchenbakterien. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 73. 1928. S. 28—57.) — Prazmowski, A., Über die Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Bot. Centralbl. Bd. 36. 1888. S. 215—219, 248—255, 280—285.) — Prazmowski, A., Die Wurzelknöllchen der Erbse. 1. Die Ätiologie und Entwicklungsgeschichte der Knöllchen. (Landw.

Vers.-Stat. Bd. 37. 1890. S. 161—238.) — Prillieux, E., Sur la nature et sur la cause de la formation des tubercules qui naissent sur les racines des Legumineuses. (Bul. Soc. Bot. France. T. 26. 1879. p. 98—107.) — Robertson, B. R., Allelocatalytic effect in cultures of Colpidium in hay-infusion and in synthetic media. (Biochem. Journ. Vol. 18. 1924. p. 1240—1247.) — Rossi, G. de, Über die Mikroorganismen, welche die Wurzelknöllchen der Leguminosen erzeugen. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 18. 1907. S. 289—314, 481—488.) — Schneider, A., Observations on some American Rhizobia. (Bul. Torrey Bot. Club. Vol. 19. 1892. p. 203—218.) — Schönberg, L., Untersuchungen über das Verhalten von Bact. radicicola Beij. gegenüber verschiedenen Kohlehydraten und in Milch. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 79. 1929. S. 205—221.) — Štefan, J., Studien zur Frage der Leguminosenknöllchen. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 16. 1906. S. 131—149. — Stutzer, A., Neue Beobachtungen über die Veränderung der Gestalt der aus den Knöllchen von Vicia Faba erhaltenen Organismen. (Mitt. Landw. Inst. Breslau. Bd. 1. Heft 3. 1901. S. 63—71.) — Thornton, H. G., The influence of the host plant in inducing parasitism in lucerne and clover nodules. (Roy. Soc. [London] Proc. B. Vol. 106. 1930. p. 110—122.) — Thornton, H. G., and Ganguleo, N., The life-cycle of the nodule organism, Bacillus radicicola (Beij.), in soil and its relation to the infection of the host plant. (Roy. Soc. [London] Proc. B. Vol. 99. 1926. 427—451.) — Tschirch, A., Beiträge zur Kenntnis der Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 5. 1887. S. 58—98.) — Wigand, A., Bakterien innerhalb des geschlossenen Gewebes der knollenartigen Anschwellungen der Papilionaceen-Wurzeln. (Marburg. Botan. Hefte. Bd. 2. 1897. S. 88—97.) — Woronin, M., Über die bei der Schwarzerle (Alnus glutinosa) und der gewöhnlichen Gartenlupine (Lupinus mutabilis) auftretenden Wurzelanschwellungen. (Mém. Acad. Imp. Sci. [St. Petersburg]. Ser. 7. Vol. 10. No. 6. 1866. p. 1—13.) — Wright, W. H., and McCoy, E. F., An accessory to the Chambers apparatus for the isolation of single bacterial cells. (Journ. Lab. and Clin. Med. Vol. 12. 1927. p. 795—811.) — Wright, W. H., and Nakajima, H., The growing of pure cultures from single cells of non-spore forming bacteria. (Journ. Bact. Vol. 17. 1929. p. 10—11.) — Zipfel, H., Beiträge zur Morphologie und Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 32. 1911. S. 97—137.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Bodenimpfung[1]).

Von **M. Düggeli**, Zürich.

Die allgemein anerkannte große Bedeutung, welche den Geobionten und insbesondere der Bakterienflora für die Zersetzungs- und Umsetzungsprozesse und damit für die Fruchtbarkeit des Bodens zukommt, läßt es begreiflich erscheinen, wenn der Landwirt und namentlich der Pflanzenbauer Mittel und Wege kennenzulernen wünscht, die geeignet sind, die im Sinne der Pflanzenproduktion nützlichen biologischen Vorgänge zu fördern und die unerwünschten Prozesse nach Möglichkeit hintanzuhalten. In der regelmäßigen Zufuhr organischer Stoffe, insbesondere von Stallmist, verbunden mit einer zweckdienlichen Regelung der Durchlüftung und Durchfeuchtung haben wir geeignete Mittel zur Verfügung, um das im Boden zu beobachtende Leben zu reicher Entfaltung zu bringen und dadurch seine Fruchtbarkeit zu fördern. Dieser auf mittelbare oder indirekte Weise herbeigeführten Beeinflussung des Edaphons durch Bearbeitung, Düngung und Nutzung der Felder

[1]) Nach einem am 15. Internationalen Landwirtschafts-Kongreß in Prag gehaltenen Vortrag, der demnächst im Landwirtschaftlichen Jahrbuch der Schweiz veröffentlicht wird.

kommt heute und wohl auch in der näheren Zukunft die ausschlaggebende Bedeutung zu.

Neben dieser mittelbaren verdient aber auch die direkte Beeinflussung der Mikroorganismen Beachtung, wie sie durch physikalische und chemische Momente und durch die Zufuhr erwünscht arbeitender Kleinlebewesen zum Boden herbeigeführt wird. Auf den Einfluß physikalischer Faktoren (Wasserzufuhr, Austrocknenlassen, Frostwirkung, Erhitzen) sowie chemischer Mittel, welche die Spaltpilzflora mehr oder weniger stark schädigen, oder bestimmte, erwünscht arbeitende Gruppen einseitig fördern und die Existenzbedingungen für die Kleinlebewelt weitgehend verändern, kann hier raummangelshalber nicht eingegangen werden. Dagegen sollen die Gesichtspunkte, die für das Einimpfen nützlicher Spaltpilze in unsere Böden in Betracht kommen, kurz erörtert werden.

Auf den ersten Blick erscheint es viel einfacher und sicherer zum Ziele führend zu sein, statt durch zielbewußte Bearbeitung, Düngung und Nutzung des Bodens die sich in ihm abspielenden Zersetzungs- und Umsetzungsprozesse dadurch in günstigem Sinne zu beeinflussen, daß wir ihm erwünscht arbeitende Mikroorganismen zuführen, ihn also damit impfen. Es wurde und wird denn auch noch oft geglaubt, es komme nur darauf an, dem landwirtschaftlich benutzten Boden sehr leistungsfähige Bakterien zuzuführen, damit seine Fruchtbarkeit gesichert sei. Diese Annahme ist aber ein Trugschluß, denn leistungsfähige Spaltpilze können nur in einem ihnen zusagenden Boden zu lebhafter Entwicklung und Tätigkeit gelangen und müssen da unbedingt versagen, wo ihnen die erforderlichen Existenzbedingungen nicht geboten werden.

Das Zufügen leistungsfähiger Mikroorganismen erfolgt entweder durch das Impfen des Bodens selbst oder aber des für ihn bestimmten Saatgutes. Die zu verwendenden Impfstoffe sind entweder natürliche, wie sie der Landwirtschaftsbetrieb zur Verfügung stellt, oder künstliche, die auf Grund bestimmter Überlegungen und Erfahrungen gewonnen, im Handel erhältlich sind oder waren.

Zu den natürlichen Impfstoffen gehören die Naturdünger (Stallmist, Jauche, Kompost, keimreiche Erde), mit denen wir neben Pflanzennährstoffen und abbaufähigen organischen Materialien große Mengen Mischkulturen von Bakterien und Pilzen in den Boden geben. Daß die mit den Naturdüngern erfolgende Impfung der Böden bedeutungsvoll sein kann, geht aus der Beobachtung hervor, daß nicht entkeimte Düngemittel wesentlich besser wirken, als die künstlich von Bakterien befreiten, in ihrer Zusammensetzung sonst nicht veränderten Düngestoffe. Man kann aber auch leicht in den Fehler verfallen, daß man die Bedeutung der Bereicherung des Ackerlandes mit niederen Lebewesen durch die Zufuhr von Stallmist überschätzt. Es muß berücksichtigt werden, daß viele der im Stalldünger enthaltenen Bakterien und Pilze gar nicht mehr lebend und andere weitgehend an den Aufenthalt in lagerndem Dünger angepaßt sind und im letzteren Falle im Boden nur teilweise und nicht sofort zusagende Lebensbedingungen finden werden. Bei der Verwendung von Kompost und humusreichen erdigen Materialien zu Düngezwecken ist der Sachverhalt, verglichen mit Stallmist, insofern anders, als sie in großer Menge Bakterien enthalten, die dem Leben in der Erde mehr oder weniger gut angepaßt sind. Tatsächlich wirkt denn auch die Düngung mit Kompost, speziell auf Wiesen, vorzüglich.

Die künstlichen Impfstoffe umfassen in der Regel Bakterienträger, die entweder nur eine einzige Spaltpilzart oder nur Gruppen bestimmter niederer Lebewesen enthalten. Auf die heutige Bedeutung für die landwirtschaftliche Praxis Rücksicht nehmend, wollen wir auseinanderhalten: Impfstoffe für die Leguminosen oder Hülsenfrüchte und solche für die Nichtleguminosen, die übrigen Kulturgewächse.

Das Impfen der landwirtschaftlich wertvollen Hülsenfrüchte mit gut angepaßtem Bacterium radicicola durch Zufügen zum Boden oder zum Saatgut gehört vielfach zu den in den Pflanzenbau eingeführten Maßnahmen. Durch die Impfarbeit wird die rasche und sichere Entwicklung zahlreicher Knöllchen an den Wurzeln der Leguminosen ermöglicht und dadurch die Bindung des elementaren Stickstoffes der Luft durch die Pflanze in die Wege geleitet.

Auf Grund der in der Praxis gesammelten Erfahrungen dürfte das Impfen der Hülsenfrüchte unter folgenden Voraussetzungen aussichtsreich und deshalb empfehlenswert sein:

a) Beim Anlegen von Neukulturen, d. h. beim Anbau von Hülsenfrüchten auf Böden, die noch nie Leguminosen trugen (Heide, Ödland, Moorböden).

b) Beim Anbau neuer oder in der Gegend selten angebauter Hülsenfrüchtespezies (Sojabohne, Lupinen, Serradella).

c) Wenn das anzubauende Gewächs schon längere Zeit nicht mehr auf dem betreffenden Felde angepflanzt worden ist.

d) Falls sich eine Leguminose auf dem Boden mangelhaft entwickelt und wenig Knöllchen bildet, obwohl durch Zugabe von Kalk, Phosphorsäure und Kali die für die Pflanzenentwicklung notwendigen Voraussetzungen erfüllt wurden.

e) Wenn die physikalische oder chemische Beschaffenheit des Bodens der anzubauenden Kulturpflanze nicht gut zusagen, wie dies beim Anbau der leichte Böden bevorzugenden Serradella auf schweren Böden der Fall ist.

f) Falls auf alten, sonst fruchtbaren Kulturböden sich Müdigkeitserscheinungen bemerkbar machen oder die Erträge sonst auffallend zurückgehen.

g) Bei Rotkleebeständen, welche die rauhe Jahreszeit schlecht überstanden haben.

h) Nach den Angaben von Pichler beim Anbau der Hülsenfrüchte zu Gründüngungszwecken.

i) Nach einschneidenden Meliorationsarbeiten, welche die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Bodens stark zu beeinflussen vermögen (Entwässerung, Bewässerung, Kalkzufuhr, Brennen, Tiefkultur u. a.).

Böden, auf denen die Hülsenfrüchte rasch zahlreiche Knöllchen bilden, lohnen das Impfen mit Bacterium radicicola im allgemeinen nicht.

Bei den Impfarbeiten empfiehlt es sich, in manchen Fällen zunächst nur versuchsweise ein Teilstück des Feldes mit Knöllchenbakterien zu versehen und dann, wenn der Versuch von Erfolg begleitet ist, die Erde des Teilstückes zum Weiterimpfen zu benutzen.

Zum Impfen des Ackers mit Knöllchenbakterien wurde früher die Erde eines Feldes verwendet, auf dem die betreffende Leguminosen-

spezies gute Knöllchenbildung zeigte, während heute meist eine gute Bakterienkultur des Handels hierzu benutzt wird, wie: Nitragin Hiltner (wird dem Vernehmen nach nur in Bayern abgegeben), Azotogen von Humann und Teisler, Nitragin N Kühn u. a. Die trotz sachgemäßem Impfen des Bodens oder des Saatmateriales gelegentlich auftretenden Mißerfolge, wobei die erhoffte Mehrernte ausbleibt, können verursacht sein durch schlechte Qualität des verwendeten Impfmateriales, durch reichliches Vorhandensein gut angepaßter Rassen des Bacterium radicicola im geimpften Boden, durch ungünstige Witterungsverhältnisse, so beispielsweise Wassermangel während oder unmittelbar nach dem Impfen u. a. m.

Während die Impfstofffrage beim Anbau der Hülsenfrüchte als gelöst zu betrachten ist, haben wir beim Zusatz eines Impfstoffes zu den Nichtleguminosen mit der Schwierigkeit zu rechnen, daß die zugefügten Spaltpilze in den jungen Wurzeln der sich entwickelnden Pflanzen keine zusagende Wirkungsstätte finden können. Aus diesem Grunde stehen die Impfverfahren für Getreidearten und Hackfrüchte von vornherein auf unsicherer Grundlage und befinden sich im Stadium tastender Versuche.

Nach meinem Dafürhalten ist die Frage der Lieferung wirkungsvoller Impfpräparate für die Nichtleguminosen heute noch nicht spruchreif. Erst müssen wir die komplizierten Wechselwirkungen, die sich zwischen den im Impfmaterial enthaltenen und den schon im Boden vorhandenen autochthonen Bakterienarten abspielen, näher kennenlernen. Dann aber ist die Frage nach dem Einfluß der den Boden besiedelnden Pflanzen auf das Edaphon abzuklären. Wir beobachten, daß die Menge und die Tätigkeit der Geobionten deutliche jahreszeitliche Schwankungen aufweisen, mit zwei ausgesprochenen Maxima im Frühling und im Herbst, und zwei Tiefständen im Hochsommer und Winter, die nicht durch klimatische Verhältnisse allein erklärt werden können. Ferner wissen wir, daß die Bakterienflora in der nächsten Umgebung der Pflanzenwurzeln, je nach der Art der kultivierten Gewächse, gewisse Eigenarten aufweist. Hiltner schuf den Begriff der Rhizosphäre als jenes Erdbereiches, in dem die Bakterienflora den spezifischen Einwirkungen der Pflanzenwurzeln unterworfen ist. Zur Erklärung des Phänomens der Rhizosphäre, wonach in der näheren Umgebung der Wurzeln der Hülsenfrüchte sehr viel, bei den Hackfrüchten weniger und bei den Getreidearten am wenigsten Spaltpilze anzutreffen sind und außer den quantitativen auch qualitative Unterschiede auffallen, müssen eine Reihe verschiedener Momente herangezogen werden. Ich verweise auf das bei den einzelnen Pflanzenspezies verschieden intensive Beschatten, das wechselnde Wasserbedürfnis, die verschieden starke Atmung des Wurzelwerkes, die spezifischen Ausscheidungen der Pflanzenwurzeln, welche auf die niederen Lebewesen als Nähr- und als Reizstoffe wirken, ferner auf die Pektinsubstanzen, die der verschleimenden Wurzelepidermis entstammen, die abgestorbenen Zellen der Wurzelhaube und die ungleiche Aufnahme der Ionen der Nährsalze durch die Pflanzenwurzeln. Es ist leicht verständlich, daß durch die angeführten physikalischen und insbesondere durch die chemischen Momente das Edaphon in der Nähe der Wurzeloberfläche mehr oder weniger stark beeinflußt werden muß. Auf Grund seiner Untersuchungen kommt Stoklasa zur Überzeugung, daß die Bakterien,

welche die Rhizosphäre bewohnen, auf die Entwicklung und überhaupt auf den gesamten Kraft- und Stoffwechsel der höheren Pflanzen einen maßgebenden Einfluß auszuüben vermögen.

Nach dem Gesagten ist es einleuchtend, wenn mit den bis dahin dem Praktiker behufs Erhöhung der Erträge bei Hackfrüchten und Getreidearten empfohlenen Impfstoffen wohl teils gute, teils aber auch unbefriedigende Erfahrungen gesammelt wurden. Von solchen Präparaten seien genannt: Nitragin U von Kühn, Alinit von Caron, Ammoniogen von Koning, Chilinit von Beddies u. a. Gestützt auf die Erfahrung, daß bei Verwendung von Kompost und anderer humus- und bakterienreicher erdiger Massen zu Düngezwecken erstaunliche Erntesteigerungen hervorgerufen werden können, wurden humushaltige Bakteriendünger hergestellt, von denen das Humogen von Bottomley und der biologische Dünger von Stoklasa erwähnt seien.

Sind wir durch künftige Forschungsarbeiten über die obengenannten Fragen genügend aufgeklärt, so dürften auch bei Nichtleguminosen Impfversuche aussichtsreich werden. Besonders sollte dies nach einschneidenden Meliorationsarbeiten, welche die Existenzbedingungen für das Edaphon stark beeinflussen, der Fall sein.

Bis zum Erreichen dieses Zieles muß dem Landwirt empfohlen werden, die vom Handel vielfach angepriesenen Impfmittel für Getreidearten und Hackfrüchte erst nach erfolgter Prüfung und Empfehlung durch eine Versuchsanstalt anzukaufen.

Nachdruck verboten.

Puffergröße und Auftreten von Pflanzenkrankheiten[1]).

Von Dr. F. Wille, Montmorency (S. et O.), Frankreich.

1. Einleitung.

Im Bezirk Siders im Wallis und dessen weiterer Umgebung leiden schon seit Jahrzehnten bestimmte Teile der Vegetation an eigentümlichen Krankheiten, die von vielen Seiten studiert wurden und über deren Herkunft die Diskussion noch nicht abgeschlossen ist.

Die parasitäre Herkunft der Erscheinungen wird immer mehr angenommen, aber es hat sich in der Folge die Nebenfrage ergeben, ob diese parasitären Erkrankungen überhaupt als primär angesehen werden dürfen, und ob sie nicht erst sekundär hinzugetreten seien, nachdem zunächst eine starke Schwächung der Vegetation die nötigen Bedingungen zu den heutigen Krankheitsherden geschaffen habe.

Als solche prädisponierende Momente werden Klima, Boden, Fabrikgase von den verschiedenen Seiten als wirksam erklärt.

Um zur Lösung dieser sehr komplexen Fragengruppe beizutragen, habe ich seinerzeit versucht (29), durch Bestimmung der H-Ionenkonzentration von wässerigen Pflanzenextrakten eine Antwort zu finden. Es hatten sich dabei deutliche Beziehungen zwischen minimalstem Säuregehalt der Wirts-

[1]) Eine vorläufige Mitteilung über diese Arbeit ist unter dem Titel: „Puffergröße und Befall von Pflanzenkrankheiten" in Band 78. 1929. S. 244—245 erschienen.

pflanze und zeitlichem Auftreten von bestimmten Krankheitsbildern ergeben. Als ich probierte, die verschiedene Empfänglichkeit von mehreren Rebsorten in ursächlichen Zusammenhang mit deren Säuregehalt zu bringen, waren die Resultate weniger klar. Einige vorhandene Ausnahmen sind aber evtl. mit dem wenig genauen Sortenbegriff (z. B. bei Rebsorten) zu erklären.

Die relativ kleinen Unterschiede im p_H der Blattextrakte bei den verschiedenen Sorten ließen die Frage, ob überhaupt der Säuregehalt allein zur Charakterisierung der Gesamtheit einer Sorte genüge, nicht als unangebracht erscheinen.

Wie z. B. Böden mit ganz identischer H-Ionenkonzentration sich durch ihr Pufferungsvermögen gegen Säuren und Basen ganz verschieden verhalten können und dadurch erst in genügender Weise charakterisiert werden, so ist etwas ähnliches auch bei den chemisch viel weniger einfach zusammengesetzten Pflanzensäften zu treffen.

Wir verstehen unter Pufferung oder Moderierung eine Faktorengruppe, die zu verhindern versucht, daß die Reaktion einer gewissen Lösung durch zugesetzte Säuren oder Basen verändert wird.

Über diesen Begriff existiert eine Reihe von Untersuchungen. Grundlegend sind die Untersuchungen von Koppel und Spiro (8), van Slyke (26), Michaelis (14), Leuthardt (11).

Versuchen wir bei der Bestimmung der H-Ionenkonzentration den ursprünglichen Zustand des Gleichgewichtes im Organismus kennenzulernen, so hoffen wir bei der Bestimmung der Pufferungsgröße eine weitere Gliederung dieser Zustände vorzunehmen.

Dies schien mir in gewissem Maße als aussichtsvoll, weil bei der Hypothese der primären Schwächung durch Gase eine solche Auswirkung der Pufferung u. a. in Frage kommen könnte.

2. Auswahl der Pflanzenarten.

Die Auswahl der Arten erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten: Es mußten die in der Natur leidenden Arten und Varietäten besondere Berücksichtigung finden; dann sollten durch Herbeiziehung von gesunden Arten bei der Interpretation evtl. zu erhaltender Resultate Vergleiche ermöglicht werden. Meine Liste setzt sich folgendermaßen zusammen:

a) An Nadelhölzern alle in der Gegend wild vorkommenden Koniferen: Pinus silvestris, Picea excelsa, Abies alba, Larix europaea, Juniperus communis, Juniperus sabina, Taxus baccata. Am meisten leidet in der Gegend die Föhre, weniger die anderen Abietineen. Dieser Art mußte also die Hauptaufmerksamkeit geschenkt werden. Die Erkrankung findet immer nur an den einjährigen Nadeln, selten oder nie an mehrjährigen statt. Dieser fundamentale Unterschied verlangte somit den Vergleich der Verhältnisse in ein- und mehrjährigen Nadeln. Die Erkrankung tritt aber auch immer zum gleichen Zeitpunkt auf. Da muß ein Zusammenhang zwischen Wirtspflanze, Parasit und äußeren Bedingungen bestehen. Die Untersuchung dürfte sich demnach nicht mit einer zeitlich beliebig entnommenen Analyse begnügen, sondern mußte die Veränderungen im Gleichgewicht der Wirtspflanze berücksichtigen. Über die Größe der Veränderungen im Säuregehalt im Laufe einer Vegetationszeit war ich schon durch frühere Untersuchungen (29)

orientiert. Im ferneren sollte die Berücksichtigung von gesundem und krankem Material des nämlichen Baumes und der gleichen Baumseite zu beantworten ermöglichen, ob bei kranken Individuen resp. Organen durch irgendwelche äußere Beeinflussung eine Verschiebung des Säure-Basengleichgewichtes stattgefunden habe und in welcher Richtung eine solche verlaufe.

b) An Laubhölzern: die Auswahl erfolgte hier z. T. nach anderen Gesichtspunkten. Zunächst fiel die Auswahl auf die Rebe, Vitis vinifera, als Hauptdiskussionsobjekt. Ich vergleiche hier die folgenden 8 Varietäten: Fendant, Gros Rhin, Gouay, Rèze, Dôle, Walliserrot, Malvoisie und Muscat. Die früher angeschnittene Frage der verschiedenen Empfindlichkeit resp. Empfänglichkeit sollte weiter beleuchtet werden. Zuletzt wählte ich noch Prunus domestica, Prunus avium, Betula alba und Robinia pseudacacia.

Die beiden Steinobstarten wurden herangezogen als zwei besonders leidende, die beiden anderen als in allen Anbauversuchen sich sehr resistent erweisende Pflanzen.

Das Material wurde soweit als möglich von den nämlichen Bäumen entnommen.

Für die Bestimmung der Puffergröße benutzte ich die folgenden, hauptsächlich bei Luftverunreinigung in Betracht kommenden Mineralsäuren: Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Kieselfluorwasserstoffsäure, Flußsäure.

3. Methodik.

Die ganze mathematische Ableitung findet sich in der eingangs erwähnten Literatur. Die Pufferung ergibt sich demnach als Differenz der Neigung der Titrationskurve des Wassers zu der Lösung. Die Formel lautet:

$$P = \frac{dS}{dH} - \left(\frac{2\,h}{K} + 1\right)$$

Bei starken Säuren, z. B. HCl, kann der Dissoziationsgrad = 1 gesetzt werden. K wird $\sim$ und die Gleichung lautet:

$$P = \frac{dS}{dh} - 1$$

Bei Einführung des H-Exponenten geht die erste Gleichung über in:

$$P = -\,10^{-p} \cdot \ln 10 \left(\frac{dS}{d\,10^{-p}} - \frac{2 \cdot 10^{-p}}{k} - 1\right)$$

wenn $k = \sim$, dann

$$P = -\left(\frac{dS}{d\,10^{-p}} - 1\right) 10^{-p} \cdot \ln 10$$

Für meine Zwecke müßte demnach bis zum Erschöpfungspunkt der beiden Systeme titriert werden, an welchem sich die beiden Lösungen bei gleichem Säurezusatz in gleicher Weise verändern. Das bedingt, daß aber oft sehr lange titriert werden muß, und wir dabei eine solche Verdünnung der Lösung bewirken, daß sie bei der Berechnung berücksichtigt werden muß. Bei den Fällen mit negativer Pufferung kommen wir zunächst über-

haupt nicht zu einer Pufferkapazität, die beiden Kurven gehen nach dem Überschneiden auseinander; es ist aber sehr wahrscheinlich, daß es sich hier nach der Überschneidung um eine zweite H-Ionen liefernde Quelle handelt und daß wir bei der Weiterführung der Titration doch wieder zu einer Parallelität im Kurvenverlauf gelangen.

Ich habe alle starken Säuren nicht als total dissoziiert angenommen, sondern empirische Säurekurven aufgestellt, die zum Vergleich resp. zur Ausrechnung der Pufferung dienten.

Bei der Titration war allgemein ersichtlich, daß mit 4 ccm N-Säure eine weitgehende Erschöpfung des Systems eingetreten sei, es wurde daher aus praktischen Gründen nicht weitergegangen.

Wir versuchten es nun mit einer anderen Darstellung der Pufferung. Ich frage, wie groß ist der Unterschied in der C_H bei gleichen Volumina wässeriger und Pufferlösung bei gleicher Säurekonzentration. Die wässerige Lösung muß im allgemeinen mehr H-Ionen besitzen, die verwendete Formel lautet demnach $C_{Ho} - C_{Hp} = P$.

Vergleichen wir die nach den beiden Methoden berechneten Werte, so ergibt sich: Bei der üblichen Puffergleichung ist P um so größer, je kleiner k, d. h. je mehr freie H-Ionen vorhanden, um so mehr braucht es, um dieselben abzupuffern, die Pufferung ist bei schwach dissoziierten Säuren größer, da hier immer noch mehr Basen zu weiterer Pufferung freibleiben als bei starken Säuren, wo viel mehr zur Pufferung verwendet werden muß.

Bei der 2. Definition ergibt sich, daß die Unterschiede in der C_H bei gleichem Säurezusatz um so größer sind, je mehr freie Säure vorhanden ist. Stark dissoziierte Säuren zeigen demnach große Unterschiede, schwache dagegen kleine. Die beiden Berechnungsarten sind ineinander überzuführen, sobald wir die Aktivitätsfaktoren noch berücksichtigen, dieselben sind aber bei unseren stark komplizierten Systemen vorderhand nicht genau bestimmbar.

Wir bleiben somit aus didaktischen Gründen bei unserer Untersuchung der $C_{Ho} - C_H$-Zahlen und geben vergleichsweise nur die Pufferzahlen nach Spiro als kleine Tabelle an[1]), berücksichtigen aber bei der Interpretation der Resultate immer den oben festgelegten Unterschied.

4. Saftgewinnung.

Die zu untersuchenden Blätter wurden in einer Fleischhackmaschine, die jeweils mit destilliertem Wasser ausgewaschen war, zerkleinert und die so erhaltene Blattmasse in einer hydraulischen Presse ausgedrückt. Die Presse gestattete uns Drucke bis zu 350 Atm. Der aufgefangene Preßsaft wurde in mit Glasstopfen verschlossenen Flaschen bei geringem Chloroformzusatz im Dunkeln bis zur Untersuchung aufbewahrt. Eine Sterilisation wurde so immer leicht erhalten, eine Gärung wurde in den Flaschen nie beobachtet. Der gewöhnliche Arbeitsdruck war 120—200 Atm., der aber bei stark viskösem Material überschritten werden mußte. Hier war etwa ein mehrstündiges Stehenlassen der gehackten Blattmasse in verschlossenen Glasflaschen zur Herabsetzung des Turgors von Vorteil. Mit 200—300 g Blattmasse würden 50—80 ccm Saft erzielt, die zur Durchführung von 5 Titrationsreihen genügten. Im ersten Frühjahr und gegen den Herbst hin war die Viskosität eine gesteigerte, so daß bei gewissen Arten eine doppelt

[1]) Nicht gedruckt.

so große Blattmasse nötig war. Das Material wurde jeweils am Morgen frisch gesammelt, in Wasser eingestellt und im Laufe des gleichen Tages verarbeitet. Die Vergleichbarkeit bei demselben Datum ist also ohne weiteres vorhanden, nicht aber eine solche der verschiedenen Daten. Eine Trockensubstanzbestimmung oder eine chemische Analyse des Ausgangsmaterials wurde nicht ausgeführt. Doch ist zu erinnern, daß mit den konzentriertesten Frühlingssäften die geringsten Pufferwerte erhalten wurden.

Ich verwendete bei vorliegender Untersuchung rein aus methodischen Gründen Preßsäfte. Extrakte wässeriger oder anderer Natur hatten wegen Veränderung der Konzentration nicht genügt. Preßsäfte aber geben auch nur Durchschnittswerte der ganzen Blattmasse. Diese sind aber nicht einwandfrei. Wissen wir doch durch die Untersuchungen von Keller, Gickelhorn u. a. (23), daß die H-Ionenkonzentration in jedem Gewebe eine andere ist. Die heutige Technik dürfte noch nicht erlauben, Titrationen mit einzelnen Geweben auszuführen, da die alleinige einfache p_H-Bestimmung schon große Schwierigkeiten bereitet. Auch bei Gasvergiftung wird die ganze Blattmasse verfärbt und tritt mit der eindringenden Säure in Reaktion. Ich bleibe also bei Preßsäften, in Analogie mit der makrochemischen Elementaranalyse, die sich auch nur selten auf einzelne pflanzliche Gewebearten beschränken kann.

Die letzthin von Molisch (16) publizierte Aschenbilderanalyse erlaubt zwar z. B. bei akuten starken Säurebeschädigungen solche mikroskopisch nachzuweisen. So ist es mir in noch nicht veröffentlichten Versuchen gelungen, eine akute SO_2-Beschädigung bei Rubus spec., von der ich zufällig ganz frisches Material erhielt, durch verändertes Aschenbild nachzuweisen. Mikrochemische Lokalisationsbestimmungen in tierischen Geweben sind jüngst im Institut Spiro, Basel, von Tschopp ausgeführt worden.

Für lange Titrationsreihen eignet sich die kolorimetrische Methode nicht, da vor allem in höherem Säurebereich die Farbenunterschiede der gewöhnlichen Indikatoren weniger scharf sind und die Eigenfarbe der Lösungen weitere Schwierigkeiten bereiten kann.

Ich arbeitete nach der Poggendorfschen Methode der Kompensationsschaltung und benutzte die Doppelchinhydronelektrode. Als Elektrodengefäße dienten 20 mm weite Glastuben, bei der HF-Titration wurde der Tubus durch einen Platintiegel ersetzt. Als Elektroden benutzte ich einfache 2 mm dicke Pt-Drähte. Das eine Gefäß enthielt die sog. Veibel-Lösung (0,01 HCl — 0,09 n KCl), das andere eine Pufferlösung [je 10 ccm $^1/_{15}$ m KH_2PO_4 und $^1/_{15}$ m Na_2HPO_4 - Sörensen (von Kahlbaum)]. Die Mischung bei der Titration wurde mit einfachem Glasrührer von Hand besorgt. Bei der Titration mit HF wurden Rührer und Heber, soweit nötig, mit Bienenwachs überzogen. Das Chinhydron stammte von Kahlbaum, dasselbe ist durch mehrstündiges Waschen auf der Nutsche mit Aq. dest. nachgereinigt worden. Titriert wurde mit Normallösungen.

Zahlreiche methodische Hinweise verdanke ich Herrn Prof. Dr. Wiegner und P. D. Dr. Trümpler, ETH. Zürich[1]).

Zur Verwendung gelangten immer 2 ccm Preßsaft. Bei der Titration wurde jeweils 4 ccm Säure zugesetzt, also eine Verdreifachung des Volumens

[1]) In neuester Zeit ist die ganze Methodik in dem aufschlußreichen Praktikum von Mislowitzer (15) schön zusammengestellt.

herbeigeführt. Schwierigkeit bot die Abmessung kleiner HF-Mengen. Ich verfertigte in der Folge einen 0,1 ccm haltenden Cu-Blechlöffel, mit dem die Säure abgemessen wurde. Bei sorgfältiger Arbeit konnte so bei mehreren Kontrolltitrationen Übereinstimmung erzielt werden. Als Relativwert darf die Methode als genügend genau angesehen werden. Für alle anderen Säuren wurden Normalbüretten verwendet.

Bei der HF-Titration traten unliebsame Beeinflussungen (Vergiftung) der Elektroden ein, die oft ein Auswechseln der Pt-Drähte benötigte. Die Elektroden wurden nachher in konz. H_2SO_4 restauriert.

Die Berechnung erfolgte nach der Formel:

$$pH_2 = 2{,}03 \pm \frac{5048}{T} \cdot P \text{ (P in Millivolt).}$$

Der Faktor $\frac{5048}{T}$ wurde für die vorkommenden Temperaturen in einer kleineren Tabelle zusammengestellt und die Rechnung mit Rechenschieber ausgeführt; z. T. arbeitete ich auch mit der PH-Skala nach Dr. Hock. Zur Umrechnung in C_H benutzte ich die Tabelle von Matula (13).

Zur Vergrößerung der Ausschläge im Galvanoskop zeigte es sich vorteilhaft, möglichst hohe Widerstände vorzuschalten. Ich verwendete immer bei der Messung gegen den Nullpunkt hin und nach der Umpolung einen Zusatzwiderstand von 2000 Ω.

5. Diskussion der Resultate.

Zunächst ist die Frage zu prüfen, ob die Ausgangszahlen für die Puffergröße, d. h. die Titrationswerte der Säure mit Wasser den theoretischen Bedingungen überhaupt entsprechen. Wir gelangen schon hier zu Schwierigkeiten, indem der genaue Dissoziationsgrad der starken Säuren bei höheren Konzentrationen nicht genau bekannt ist. Die zur Berechnung nötigen Aktivitätsfaktoren sind von Noyes und MacInnes (20) für verschiedene Stoffe festgestellt worden; doch sollen diese Werte noch nicht endgültig feststehen.

Tabelle.

N-Säure und 2 ccm Wasser				Differenz mit den experimentell gefundenen Werten				
ccm		p_H	C_H	H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
0,1	= 1/21	1,33	0,0467	— 0,007	0,002	0,003	0,0253	0,04211
0,2	= 1/11	1,05	0,0891	0,01	0,013	0,0096	0,0574	0,08235
0,3	= 3/23	0,93	0,118	0,033	0,033	0,0268	0,0773	0,1045
0,4	= 1/6	0,78	0,166	0,059	0,061	0,062	0,111	0,1452
0,5	= 1/5	0,70	0,199	0,084	0,064	0,067	0,1373	0,175
0,6	= 3/13	0,64	0,229	0,103	0,091	0,093	0,1615	0,2009
0,7	= 7/27	0,54	0,288	0,147	0,136	0,140	0,2122	0,2549
0,8	= 2/7	0,53	0,295	0,137	0,137	0,137	0,2137	0,2549
0,9	= 9/29	0,51	0,309	0,135	0,131	0,127	0,2199	0,2719
1,0	= 1/3	0,48	0,331	0,143	0,140	0,145	0,2375	0,2921
1,5	= 3/7	0,37	0,426	0,224	0,215	0,224	0,324	0,3844
2,0	= 1/2	0,30	0,502	0,283	0,278	0,284	0,390	0,4564
2,5	= 5/9	0,25	0,550	0,310	0,310	0,311	0,427	0,501
3,0	= 3/5	0,24	0,576	0,307	0,313	0,319	0,445	0,5223
3,5	= 7/11	0,20	0,631	0,350	0,350	0,350	0,493	0,5734
4,0	= 2/3	0,18	0,660	0,372	0,365	0,351	0,505	0,5983

Ich gebe im vorstehenden eine kleine Tabelle der berechneten p_H- und C_H-Werte unter Berücksichtigung der jeweiligen Verdünnung bei der angewendeten 2 ccm Ausgangslösung, aber ohne Verrechnung der Dissoziation und stelle diesen Zahlen die Differenzen mit den jeweiligen C_H-Zahlen der experimentell gefundenen Titrationswerte gegenüber.

Wie kommt nun die Pufferung überhaupt zustande?

Puffer sind Stoffe, die die Eigenschaften der zugegebenen Säuren und Basen zu ändern vermögen und zwar ist es gleichgültig, ob sie mit ihnen neue Verbindungen eingehen oder ob sie einfach deren Dissoziation ändern.

Meist ist die Pufferung eine Salzbildung. Dabei haben wir eine Neutralisation einer Base oder die Verdrängung einer schwächeren Säure aus ihrem Salz. Ferner kommt Pufferung durch Adsorption der Wasserstoff- und Hydroxylionen zustande (Löffler und Spiro, 12) oder durch Anhydridbildung (Eder und Kutter, 3). Eine wichtige Rolle spielen hier die Ampholyte. Besonders die Eiweißlösungen mit den schwach basischen Amino- und den schwach sauren Carboxylgruppen sind gut geeignet. Leuthardt (11) diskutiert auch die Möglichkeit einer negativen Pufferung, indem gewisse Lösungen bei Säurezusatz stärker sauer werden als Wasser, indem sie Stoffe enthalten (Nichtelektrolyte, Glyzerin, Zucker, Alkohole), die die Dissoziation der betr. Säuren zu erhöhen imstande sind (als Beispiel sei erwähnt Glyzerin-Phosphorsäure, Mannit-Borsäure).

Die Problemstellung war für mich festzustellen, wie groß die Pufferung meiner chemisch nicht genau bekannten Pflanzenpreßsäfte gegen zugesetzte mineralische Säuren sei. Über die Art der Pufferungsstoffe sollten vorderhand keine Untersuchungen vorgenommen werden. Die Änderung der Puffergröße im Laufe einer Vegetationszeit, d. h. in den verschiedenen Altersstufen, war der Hauptprogrammpunkt.

Da ist einmal die Frage zu prüfen, wann ist die Pufferung überhaupt zu bestimmen. Es ergeben sich hier verschiedene Möglichkeiten. Wir untersuchen einzelne Kurven als solche und sehen, ob hier Anomalien bestehen oder nicht, dann vergleichen wir die einzelnen Kurven gegenseitig. Ich ging dazu auf zwei verschiedenen Wegen vor. Zunächst bestimmte ich die Summen der Titrationsdifferenzen ($C_{Ho} - C_{Hp}$) in Grammäquivalenten (Tabelle 1 u. 2). Im weiteren trug ich die einzelnen p_H-Werte der Säuretitrationen (Pflanzensaft- und Säurelösung) graphisch auf, planimetrierte die erhaltenen Flächen und berechnete ihre Differenz, die die Puffergröße darstellt. Es handelt sich aber um logarithmische Zahlen; zu Vergleichszwecken können dieselben geradesogut wie die arithmetischen der ersten Methode gebraucht werden. Dabei bin ich noch weitergegangen, indem ich die erhaltenen Summen der einzelnen Erhebungstage nochmals graphisch auftrug und als Abszisse die Zeit verwendete (Anzahl der Tage zwischen den einzelnen Analysentagen). Die erhaltenen Diagramme wurden wieder planimetriert. Dadurch konnte die verschieden lange Zeit zwischen den einzelnen Analysen etwas kompensiert werden. Auch hier handelt es sich wieder um logarithmische Zahlen (Tabelle 3 u. 4). Die nach den beiden Methoden erhaltenen Werte sind nicht ganz gleichlautend, wir kommen später darauf zurück.

Aber auch über die Länge der Kurven läßt sich diskutieren. Das Ende der jeweiligen Titration ist mit den verwendeten 4 ccm Säure meistens erreicht, d. h. die Unterschiede zwischen der Säure-Pflanzensaftkurve werden verschwindend klein.

Tabelle 1.

Σ ($C_{Ho} - C_{Hp}$) in Gramm-Äquivalenten (0—1,0).

		H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Pinus silvestris 1928 grün .	7. V.	1,089	0,7956	0,8486	0,531	0,2269
	29. V.	0,2341	0,4562	0,042	— 0,3009	0,211
	19. VI.	0,7228	0,716	— 0,039	— 0,0434	0,2083
	23. VIII.	0,9474	0,813	0,858	0,000	0,2032
	25. X.	0,8452	1,0191	0,0016	0,3707	0,2145
Pinus silvestris 1927 grün .	7. V.	1,051	1,030	0,968	0,4791	0,2048
	29. V.	0,730	0,592	0,631	0,0209	0,226
	17. VI.	0,730	0,755	0,569	0,1108	0,205
	23. VIII.	0,955	0,910	0,7847	0,4506	0,1935
	25. X.	0,9853	0,9381	0,7475	0,4197	0,2257
Pinus silvestris 1928 braun	19. VI.	0,980	0,574	0,540	0,046	0,210
	23. VIII.	0,894	0,870	0,852	0,305	0,1946
	25. X.	1,127	1,054	0,695	0,530	0,2191
Pinus silvestris 1928 braun	23. VIII.	0,972	1,0321	0,724	0,395	0,2074
Larix europaea	23. IV.	0,7724			0,8820	0,2119
	14. V.	1,0282	0,7729	0,8954	0,3344	0,2211
	25. VI.	1,1739	0,9802	1,177	0,543	0,2246
	31. VIII.	1,0123	0,9074	0,9512	0,5169	0,2106
	25. X.	1,001	1,079	1,0563	0,4483	0,2206
Picea excelsa 1928	9. V.	1,1532	1,1395	1,102	0,5124	0,2204
	18. VI.	0,9748	1,1096	0,5676	0,2103	0,2038
	30. VIII.	0,9589	0,5502	1,0497	0,1683	0,2251
	26. X.	1,1155	1,0279	1,0855	0,5043	0,2797
Picea excelsa 1927	9. V.	1,1785	1,1301	1,1636	0,5523	0,2133
	18. VI.	1,1669	1,1651	1,1536	0,4134	0,2295
	30. VIII.	1,0645	0,9993	1,1722	0,4371	0,2196
	26. X.	1,1408	1,036	1,0463	0,5668	0,2202
Abies alba 1928	19. IV.	1,0234				
	11. V.	1,1031	1,0844	0,9545	0,5939	0,2015
	14. VI.	1,135	1,1666	1,8742	0,542	0,232
	31. VIII.	1,1647	0,9671	1,0362	0,3363	0,2327
	30. X.	1,1223	0,8211	0,9924	0,4413	0,2106
Abies alba 1927	11. V.	1,121	1,151	1,1116	0,5784	0,2020
	14. VI.		1,0896	0,8569	0,3295	0,2188
	31. VIII.	1,1062	1,0373	1,0481	0,4112	0,2273
	30. X.	1,1962	1,0601	1,1863	0,4623	0,2290
Juniperus communis 1928	25. IV.	1,0051		1,0057	0,4823	
	18. V.	0,9677	0,7851	0,6298	0,2886	0,2283
	5. VII.	0,9591	0,6881	0,8002	0,4111	0,2278
	8. IX.	1,0885	1,1654	0,8726	0,341	0,1898
	31. X.	0,7565	1,156	0,7734	0,4121	0,2058
Juniperus communis 1927	25. IV.	0,9204				
	19. V.		0,2534		0,1941	
	8. IX.	0,9386	1,1515		0,422	0,1982

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Σ ($C_{Ho} - C_{Hp}$) in Gramm-Äquivalenten (0—1,0).

		H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Taxus baccata 1928 . . .	18. IV.	1,1194		1,0439	0,5286	
	19. VI.	1,1246	0,7532	0,7033	0,2602	0,2223
	3. IX.	1,0826	1,2112		0,564	0,2339
	30. X.	0,9405	0,865	0,8262	0,542	0,3238
Taxus baccata 1927 . . .	18. IV.	1,1346		1,0479	0,5339	
	19. VI.	1,1625	1,0358	1,0475	0,4587	0,2214
	3. IX.	1,1654	1,2333	1,156	0,5209	0,2283
	30. X.	1,0027	1,0317	0,9823	0,471	0,2250
Juniperus sabina	19. IV.	0,9746		0,7222	0,2990	
	14. VI.	1,0481	1,1428	0,9004	0,4642	0,1938
	3. IX.	1,0116	1,1433	1,132	0,3688	0,1852
	30. X.	0,9898	0,8499	0,9063	0,3174	0,1996
Vitis vinifera „Fendant" .	1. VI.	0,9222	0,5285	0,6599	0,1568	0,1948
	8. VIII.	1,1131	0,950	1,1227	0,3141	0,2224
	11. IX.	1,0902	0,9987	0,7164	0,3001	0,1705
	19. X.	1,0943	1,0914	0,8810	0,3863	0,2138
Vitis vinifera „Gros Rhin"	1. VI.	0,8677	0,5355	0,1796	— 0,1284	0,1936
	8. VIII.	1,088	0,8752	0,9968	0,3487	0,2151
	11. IX.	1,0289	1,1148	0,8286	0,4517	0,2854
	19. X.	1,0961	1,0627	1,0319	0,499	0,1664
Vitis vinifera „Rèze" . .	8. VI.	0,9892	0,9531	0,1716	— 0,2116	0,1725
	9. VIII.	1,0355	0,7476	0,9043	0,4699	0,2011
	12. IX.	0,9544	1,0043	0,9610	0,2590	0,1938
	18. X.	1,1216	1,0419	1,1100	0,512	0,2055
Vitis vinifera „Dôle" . .	8. VI.	1,0476	0,6706	0,8579	0,3510	0,1587
	9. VIII.	0,922	0,9106	0,8187	0,2786	0,2099
	12. IX.	1,0891	1,2132	1,0148	0,3797	0,2010
	19. X.	1,192	1,2187	1,1951	0,5581	0,1954
Vitis vinifera „Gouay" . .	10. VI.	0,9995	0,9644	0,8452	0,3445	0,1904
	10. VII.	1,047	0,7852	0,9177	0,3476	0,1976
	10. VIII.	1,0714	0,9808		0,4626	0,2010
	14. IX.	0,9405	1,1983	0,8073	0,2864	0,1633
	19. X.	1,1578	1,1511	1,1142	0,4935	0,2125
Vitis vinifera „Malvoisie" .	11. VI.	0,9063	0,9344	0,9337	0,3216	0,2036
	10. VII.	0,840	0,7665	0,8918	0,2775	0,2026
	9. VIII.	0,9837	0,8486	0,8964	0,3353	0,1961
	14. IX.	1,0765	1,2168	1,0364	0,482	0,2036
	19. X.	1,2173	1,2327	1,2357	0,6051	0,2315
Vitis vinifera „Walliserrot"	11. VI.	0,958	0,7696	0,9146	0,2778	0,1799
	8. VIII.	0,7483	0,8117	0,6781	0,2934	0,2095
	14. IX.	0,9664	1,1944	1,0038	0,4468	0,2328
	22. X.	1,130	1,1336	0,947	0,5057	0,2285
Vitis vinifera „Muscat" .	8. VI.	1,1183	1,4124	0,7250	— 0,3759	0,1834
	8. VIII.	0,9786	0,7678	0,9237	0,3361	0,1966
	12. IX.	1,0694	1,0115	0,7934	0,4315	0,2158
	18. X.	1,1728	1,1598	1,1083	0,4713	0,2246

Tabelle 1 (Fortsetzung).
Σ ($C_{Ho} - C_{Hp}$) in Gramm-Äquivalenten (0—1,0).

		H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Robinia pseudacacia . . .	21. V.	1,1635	1,1226	0,6912	0,5631	0,2257
	25. VI.	1,127	0,8437	0,9857	0,4111	0,2343
	4. IX.	1,1076	1,1956	1,1603	0,5046	0,2312
	22. X.	1,1337	0,8094	0,9771	0,4778	0,2223
Betula alba	25. IV.	1,0878	0,7538	0,9544	0,5270	
	26. V.	1,039	0,8087	0,8268	0,1943	0,2233
	5. VII.	0,702	0,6394	0,4308	0,2252	0,1755
	6. IX.	1,0262	1,1803	0,9194	0,2561	0,1962
	24. X.	0,7957	0,6539	0,530	0,2736	0,1448
Prunus avium	30. IV.	1,1315	0,8403	0,6036	0,4411	0,2306
	25. V.	0,9223	0,9458	0,6722	0,3816	0,2369
	5. VII.	0,9163	0,8977	0,6918	0,3376	0,2022
	6. IX.	1,0389	1,1645	0,9138	0,3904	0,178
	24. X.	1,0427	0,7985	1,1173	0,3217	0,2145
Prunus domestica	27. IV.	1,0631	0,8589	0,8761	0,4818	0,2287
	21. V.	1,075	0,9221	1,0614	0,4892	0,2295
	25. VI.	0,9489	0,9081	0,9124	0,3646	0,2229
	4. IX.	0,9476	1,1849	1,0514	0,3767	0,1936
	22. X.	1,1565	1,0238	1,0902	0,4982	0,2020

Theoretisch könnte man aber einwenden, daß praktisch so hohe Konzentrationen bei Säurevergiftung aus der Atmosphäre gar nicht in Betracht kommen, daß also nur die ersten Titrationswerte zu berücksichtigen seien. Die Untersuchung ist aber nicht speziell wegen saurer Gasvergiftung unternommen worden, es sollten ja die Unstimmigkeiten, die sich bei der früheren p_H-Untersuchung ergeben hatten, weiter geklärt und vor allem festgestellt werden, ob die Pufferung im Lebensrhythmus der Pflanze beim Auftreten gewisser Krankheiten in irgendeiner Weise mitwirke. Wir haben also bei unseren Studien immer die beiden Konzentrationen von 0—1 und 0—4 ccm Säure zugrunde gelegt.

6. Besprechung der Einzelresultate.

Um für die spätere Diskussion eine bessere Vergleichsbasis zu haben, sollen die Durchschnittszahlen der Pufferwerte vorausgestellt werden. Ich verwendete zu ihrer Ermittlung die Werte:

1. ($S_O - S$) Zeit 1 ccm Säure und 4 ccm Säure.
2. ($C_{Ho} - C_{Hp}$) 1 ccm Säure und 4 ccm Säure

Die Durchschnittszahlen sind als arithmetische Mittel von 103 Pufferungszahlen der verschiedenen untersuchten Pflanzen bestimmt worden:

	H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
1. 1 ccm Säure	160	142	137	55	29
4 „ Säure	1071	918	771	240	219
2. 1 ccm Säure	1,001	0,93	0,76	0,38	0,23
4 „ Säure	6,13	4,84	3,92	1,73	1,390

Tabelle 2.

(C_{Ho}—C_{Hp}) in Gramm-Äquivalenten (0—4,0 ccm).

		H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Pinus silvestr. 1928 grün	7. V.	6,897	3,2011	2,5586	1,8099	1,4289
	29. V.	2,202	1,098	— 6,504	— 3,5886	1,082
	19. VI.	4,458	3,038	0,877	— 1,187	1,2085
	23. VIII.	7,1514	3,333	1,5511	0,638	1,5172
	25. X.	7,1552	7,1211	1,7652	1,4387	1,3845
Pinus silvestr. 1927 grün	7. V.	7,015	6,202	5,888	1,4547	1,278
	29. V.	1,1324	0,879	— 0,341	— 1,407	1,354
	19. VI.	4,618	2,019	2,297	— 0,9632	1,327
	23. VIII.	7,429	5,890	5,3567	2,6346	1,5135
	25. X.	7,3213	6,132	3,2255	2,1177	1,4977
Pinus silvestr. 1927 braun	23. VIII.	6,5828	6,546	5,540	2,061	1,597
Pinus silvestr. 1928 braun	19. VI.	6,866	— 0,162	1,716	— 1,481	1,404
	23. VIII.	6,312	6,042	6,000	1,343	1,4846
	25. X.	8,933	7,480	3,077	3,824	1,479
Picea excelsa 1928 . . .	9. V.	8,637	7,9755	8,17	3,578	1,811
	18. VI.	7,2808	8,8376	3,0876	0,7743	1,3942
	30. VIII.	6,9049	3,786	7,747	— 0,051	1,5257
	26. XI.	8,6815	7,6635	8,2135	2,8643	1,3315
Picea excelsa 1927 . . .	9. V.	8,9725	8,5101	8,8436	4,1703	1,6371
	18. VI.	9,2269	8,7611	9,0376	2,7834	1,7103
	30. VIII.	7,9445	8,793	9,224	2,791	1,6472
	26. X.	10,0368	7,054	7,4363	3,7348	1,3254
Abies alba 1928	11. V.	7,6731	7,5104	4,008	2,0099	1,4043
	14. VI.	7,825	5,7526	5,4292	3,770	1,705
	31. VIII.	8,1627	6,8651	8,0982	2,3223	1,9656
	30. X.	8,3823	4,0011	6,8964	2,0973	1,3506
Abies alba 1927	11. V.	7,4150	7,679	7,075	3,452	1,4331
	14. VI.		8,0396	5,014	1,7515	0,6739
	31. VIII.	8,180	7,9973	8,278	2,2252	1,7623
	30. X.	9,212	6,3581	7,972	3,1743	1,8112
Larix europaea	23. IV.					1,1269
	14. V.	6,7042	3,185	5,299	1,492	0,943
	25. VI.	7,448	8,876	8,649	3,531	2,0318
	31. VIII.	6,646	4,9934	7,317	3,2227	1,9746
	25. X.	7,8112	8,063	6,636	2,2743	1,7002
Juniperus communis 1927	18. V.		0,3314		0,201	
	8. IX.	7,754	9,3475		2,294	0,8504
Juniperus communis 1928	18. V.	5,4437	3,6117	3,2578	— 0,6114	0,2727
	5. VII.	5,279	1,9901	3,362	1,939	1,5642
	8. IX.	9,124	9,343	6,1646	2,309	0,9938
	31. X.	4,1525	9,098	3,5394	1,8401	1,3728
Juniperus sabina	14. VI.	7,0000	8,718	4,5424	3,3562	1,2609
	3. IX.	7,9596	9,0212	9,046	2,033	1,0204
	30. X.	6,6158	4,0899	5,398	0,6114	1,2004

Tabelle 2 (Fortsetzung).
(C_{Ho}—C_{Hp}) in Gramm-Äquivalenten (0—4,0 ccm).

		H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Taxus baccata 1928 . .	18. VII.	8,7346	3,6332	1,843	— 0,0718	1,5417
	30. IX.	6,7706	8,267		3,696	1,6667
	30. X.	4,0845	4,831	3,9762	0,782	1,6498
Taxus baccata 1927 . .	18. IV.					
	19. VI.	8,1825	7,1378	5,4455	2,2107	1,620
	30. IX.	10,1234	9,5193	9,040	3,9289	1,5543
	30. X.	5,5507	5,4057	5,6023	3,2217	1,5798
Vitis vinifera „Fendant"	1. VI.	6,4422	4,0562	6,007	1,1340	1,5376
	8. VIII.	8,6971	6,4768	8,5627	1,1661	1,8976
	11. IX.	7,1422	6,947	4,8444	1,8901	1,1929
	19. X.	7,8203	7,2174	6,7498	2,3303	1,403
Vitis vinifera „GrosRhin"	1. VI.	5,2117	3,0675	— 0,9509	— 2,5154	1,3204
	8. VIII.	8,6360	6,6472	6,4548	1,2847	1,649
	11. IX.	9,1229	8,7468	5,8746	5,4817	1,1802
	18. X.	7,0781	5,3287	6,5999	3,2170	1,2248
Vitis vinifera „Rèze" . .	8. VI.	8,0752	8,2371	0,2556	— 6,4118	1,1013
	9. VIII.	7,3895	5,0916	5,6323	2,8459	1,4587
	12. IX.	7,8004	7,2443	6,6250	1,9150	1,4682
	18. X.	7,8356	5,5339	5,8860	1,6280	1,2345
Vitis vinifera „Dôle" . .	8. VI.	9,1176	5,9686	6,9119	1,7170	0,9851
	9. VIII.	5,5661	5,1946	5,6127	1,1606	1,5641
	12. IX.	8,1150	9,6252	7,1528	2,7917	1,5012
	19. X.	8,3080	6,9307	5,6771	2,0381	0,9568
Vitis vinifera „Malvoisie"	11. VI.	6,1983	6,3704	5,4817	0,9696	1,5572
	10. VII.	3,666	3,6945	5,6438	0,6315	1,4308
	9. VIII.	6,7797	5,6546	5,6124	2,0741	1,4237
	14. IX.	8,0365	9,7248	7,704	2,240	1,4714
	19. X.	8,4953	7,1607	8,2617	3,0831	1,6523
Vitis vinifera „Gouay" .	10. VI.	7,4135	6,2684	5,2252	1,4845	1,517
	10. VII.	7,209	3,4492	6,4777	1,2846	1,3802
	10. VIII.	6,934	5,8188		2,3566	1,3212
	14. IX.	6,2745	9,3343	2,9803	0,8104	1,0573
	19. X.	8,3178	7,9421	6,2682	2,1255	1,5187
Vitis vinifera „Walliserrot"	11. VI.	6,406	4,0216	4,3286	1,2618	1,5557
	8. VIII.	5,3683	3,6257	5,3521	0,5694	1,4863
	14. IX.	7,1584	3,6364	3,0370	2,5108	1,2852
	22. X.	7,910	8,1176	5,417	2,8337	1,690
Vitis vinifera „Muscat" .	8. VI.	9,5843	9,6238	— 4,327	— 10,8619	1,2418
	8. VIII.	7,0826	5,3755	6,6057	2,0581	1,5478
	12. IX.	7,5794	6,975	4,1134	1,6855	1,4020
	18. X.	8,1688	6,9558	6,6103	1,4733	1,5920
Betula alba	26. V.	4,4470	1,8047	3,7188	— 1,6897	1,2781
	5. VII.	5,2920	2,5174	1,7448	0,6332	1,1439
	6. IX.	8,3642	9,4183	6,7934	1,6481	1,2228
	24. X.	5,8957	4,2174	3,2780	1,7376	0,9820

Tabelle 2 (Fortsetzung).
(C_{Ho}—C_{Hp}) in Gramm-Äquivalenten (0—4,0 ccm).

		H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Prunus avium	30. IV.	5,7695	1,2123	0,0996	— 0,0209	1,1498
	25. V.	3,7123	3,2078	2,5742	— 1,0824	1,5851
	5. VII.	4,7103	5,1217	2,4558	0,154	1,1952
	6. IX.	8,1009	9,2755	6,4058	2,6344	0,976
	24. X.	8,3807	3,7505	5,9473	1,2937	1,3557
Prunus domestica . . .	27. IV.		2,5209			1,3873
	21. V.	6,073	3,7967	2,6934	1,8512	1,1637
	25. VI.	7,1369	4,1261	4,8124	0,5926	2,6713
	4. IX.	7,7156	9,5129	7,8979	3,1247	1,092
	22. X.	8,3205	5,7798	5,9622	3,1682	1,4568
Robinia pseudacacia . .	21. V.	8,4475	3,6726	2,4672	3,4791	1,6345
	25. VI.	7,199	4,0057	5,1137	1,5811	1,8519
	4. IX.	9,1056	9,4336	9,1343	3,0646	1,7348
	22. X.	8,0337	5,2314	6,0291	2,1218	1,4925

Die Zahlen von 1. sind logarithmische Werte, die von 2. sind Grammäquivalente.

Zwischen den Puffergrößen der verschiedenen Säuren existieren recht große Differenzen. Setzt man den Wert der kleinsten Größe = 1, so ergeben sich folgende Relativzahlen, die für den schnellen Vergleich dienlicher sind:

	H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
1.	5,8	4,8	4,7	1,9	1
	4,8	4,1	3,5	1,09	1
2.	4,34	4,04	3,3	1,6	1
	4,4	3,4	2,1	1,2	1
∅ von 1. u. 2.	4,85	4,08	3,4	1,45	1

Pinus silvestris.

Ein Vergleich der verschiedenen erhaltenen Werte zeigt zunächst ein deutliches Minimum bei allen 5 zur Untersuchung herangezogenen Säuren. Dieses ausgeprägte Minimum findet sich Ende Mai bis Anfang Juni bei sämtlichen Säuren. Wir erinnern uns sofort, daß das Auftreten der studierten Föhrenerkrankung zeitlich genau definiert war (W i l l e, 29). Ich beobachtete dasselbe während 8 Jahren immer in der oben angegebenen Zeit und zwar:

1921	10. Juni	1925	25. Mai
1922	30. Mai	1926	22. Mai
1923	7. Juni	1927	24. Mai
1924	31. Mai	1928	29. Mai

Das früher festgestellte Ergebnis eines Zusammenhangs von minimalem Säuregehalt von Blattextrakten, relativ niedrigem Aschengehalt und Auftreten der Föhrenerkrankung erfährt somit eine Erweiterung durch den minimalen Puffergehalt und ist zugleich eine Bestätigung der Wichtigkeit dieses physiologischen Punktes.

Tabelle 3.

(S_0 — S) × Zeit (0—1,0 ccm Säure).

	H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Pinus silvestris 1928 grün	129	126	71	5	36
Pinus silvestris 1927 grün	142	143	120	48	30
Pinus silvestris 1928 braun	122	106	91	40	26
Picea excelsa 1928	172	149	150	44	37
Picea excelsa 1927	193	178	151	81	40
Abies alba 1928	188	170	219	76	33
Abies alba 1927	191	180	173	66	44
Larix europaea	190	150	155 (!)	91	39
Juniperus communis 1928	160	157	128	57	30
Juniperus sabina	197	144	185	75	28
Taxus baccata 1928	213	138	150	88	32
Taxus baccata 1927	232	146	200	121	28
Vitis vinifera „Fendant"	147	114	119	38	21
Vitis vinifera „Gros Rhin"	132	115	100	33	22
Vitis vinifera „Rèze"	126	115	92	33	21
Vitis vinifera „Dôle"	130	127	121	44	21
Vitis vinifera „Walliserrot"	114	125	111	44	29
Vitis vinifera „Muscat"	137	139	112	25	25
Vitis vinifera „Malvoisie"	117	123	126	46	24
Vitis vinifera „Gouay"	128	128	110	44	23
Betula alba	157	143	126	44	20
Prunus avium	174	167	169	70	39
Prunus domestica	176	180	178	62	37
Robinia pseudacacia	177	150	148	64	30

Tabelle 4.

(S_0 — S) × Zeit (0—4,0 ccm Säure).

	H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
Pinus silvestris 1928 grün	979	632	— 3	— 32	233
Pinus silvestris 1927 grün	1001	747	579	178	241
Pinus silvestris 1928 braun	887	618	535	256	181
Picea excelsa 1928	1247	1090	1042	149	239
Picea excelsa 1927	1504	1105	1054	520	266
Abies alba 1928	1380	1058	1114	457	286
Abies alba 1927	1459	1321	1242	403	224
Larix europaea	1173	1074	1210	514	318
Juniperus communis 1928	1084	999	719	278	190
Juniperus sabina	1003	1083	959	287	148
Taxus baccata 1928	890	825	380	296	214
Taxus baccata 1927	1118	1041	948	425	202
Vitis vinifera „Fendant"	1130	850	979	202	211
Vitis vinifera „Gros Rhin"	1094	852	655	167	190
Vitis vinifera „Rèze"	1015	852	615	28	178
Vitis vinifera „Dôle"	990	901	838	237	172
Vitis vinifera „Muscat"	1052	927	448	— 155	191
Vitis vinifera „Malvoisie"	740	852	837	233	195
Vitis vinifera „Walliserrot"	844	800	585	214	190
Vitis vinifera „Gouay"	902	838	634	200	168
Prunus avium	1005	895	641	84	214
Prunus domestica	1124	974	902	316	258
Robinia pseudacacia	1240	927	972	397	247
Betula alba	979	782	623	130	173

Die Kurven verlaufen recht verschieden, je nachdem wir 1 oder 4 ccm Säure zur Titration verwenden.

1 ccm Säure. Das Minimum bei den grünen Nadeln tritt zwischen dem 29. Mai und dem 9. Juni auf. Von Bedeutung ist dann, daß bei HCl und H_2SiF_6 negative Pufferung besteht. Die älteren grünen Nadeln (1927) verhalten sich anders. Ein Minimum ist an diesem Punkte auch vorhanden (Ausnahme macht HF, hier Verschiebung auf VIII.), aber es kommt zu keiner negativen Pufferung. Eine Einheitlichkeit besteht beim Vergleich der Nadeln von 1927 und 1928 nicht. Die Pufferung ist, wie natürlich bei den älteren Nadeln, eine bessere, aber trotzdem kommen in jeder Säurereihe Differenzen vor, d. h. in 6 Fällen ist das Material von 1928 besser als das von 1927 gepuffert. Gegenüber HF sind die jüngeren Nadeln meist besser gepuffert als die älteren.

Was nun die braunen pilzkranken Nadeln anbetrifft, so liegen leider keine so vollständigen Reihen vor, wie bei den grünen Nadeln. Das Material war schwerer zu beschaffen und auch die Gewinnung der Preßsäfte bereitete viel größere Schwierigkeiten. Aber der Jahrgang 1928 gestattet doch einen Vergleich. Als Hauptresultat ergibt sich auch negative Pufferung gegenüber H_2SiF_6, sonst aber im allgemeinen geringere Pufferung. Stellen wir die Resultate in einer Tabelle zusammen:

	H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
1928. VI.	+ 0,2572	+ 0,142	— 0,501	— 0,049	— 0,0017
VIII.	— 0,0326	— 0,057	+ 0,006	— 0,305	+ 0,0086
X.	— 0,2818	— 0,0349	— 0,6834	— 0,159	— 0,0046
1927. VIII.	— 0,017	— 0,1221	+ 0,023	+ 0,0576	— 0,0139

Grüne Nadeln — besser + oder weniger gut = — gepuffert als braun.

Hinsichtlich der Pufferung von grünen und braunen Nadeln zeigt sich demnach ein ähnliches Resultat wie seinerzeit bei den p_H-Bestimmungen; der Kurvenverlauf ist kein einheitlicher, die beiden Kurven schneiden sich. Braun ist im Juni und August besser gepuffert als grün, dieses aber dafür besser im Oktober. Diese Erscheinung kann kaum mit geringerer Vitalität, wie Fischer und Gäumann (3 a, 368) meine früheren Resultate interpretierten, erklärt werden, da doch sonst allgemein braun schlechter als grün gepuffert sein sollte. Die Maxima sind bei den grünen Nadeln von 1927 und 1928 am Anfang der Vegetationszeit anzutreffen, d. h. anfangs Mai. Eine Verschiebung dieses Punktes auf das Ende der Vegetationszeit findet statt bei den Nadeln von 1928 gegenüber HNO_3 und HCl und bei denen von 1927 gegenüber HF. Die Empfindlichkeitsskala lautet in absteigender Reihenfolge:

1928: Grün: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6; Braun: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6 HF.

1927: Grün: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF; Braun: HNO_3, H_2SO_4, HCl, H_2SiF_6, HF.

4 ccm Säure. Wenn wir statt 1 ccm 4 ccm Säure nehmen, so müssen die Resultate anders werden. Identisch ist, wie oben, das Vorkommen eines Minimums, das am 29. Mai bei den 1928 und 1927er Nadeln auftritt. Negative Pufferung haben wir wieder an dem nämlichen Datum gegenüber H_2SiF_6 und HCl bei den 1928 und 1927er Nadeln, bei den 1927er

Nadeln zudem auch noch am 19. VI. bei H_2SiF_6; das Minimum ist hier im übrigen am 29. V., bei HF tritt es schon anfangs Mai auf.

Hinsichtlich der Differenzen grüner und brauner Nadeln gibt folgende analoge Tabelle die Details:

	H_2SO_4	HNO_3	HCl	H_2SiF_6	HF
1928. VI.	— 2,1248	+ 3,3206	— 0,839	+ 2,666	— 0,196
VIII.	+ 0,8394	— 2,709	— 4,449	— 0,705	+ 0,0326
X.	— 1,778	— 0,359	— 1,312	— 2,386	— 0,085
1927. VIII.	+ 0,5686	— 3,213	— 3,989	— 1,423	— 0,080

Auch hier ist also wieder keine Übereinstimmung in den Resultaten zu bemerken: bessere Pufferung ist bei grün im Juni und August gegenüber einzelnen Säuren vorhanden, im Oktober überwiegen immer die braunen Nadeln. Bei den 1927er Nadeln bestehen wiederum ähnliche Unregelmäßigkeiten.

In der Mehrzahl der Fälle sind die älteren Nadeln besser gepuffert wie die jüngeren, bei der kleineren Säuremenge war diese Erscheinung aber einheitlicher anzutreffen.

Die Maxima sind bei den jüngeren Nadeln am Schlusse und am Anfang der Vegetationszeit vorhanden, bei den älteren Nadeln stimmt das aber weniger genau.

Die Empfindlichkeitsskala lautet dieses Mal:

1928 grün: H_2SO_4, HNO_3, HF, HCl, H_2SiF_6; braun: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6.

1927 grün: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6; braun: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF.

Nehmen wir die eingangs aufgeführten Mittelzahlen zur Hilfe, so ergibt sich für Pinus folgendes Bild:

Graphische Methode: 1 ccm Säure: Von 15 Zahlen stehen nur 3 über Mittel; davon sind noch 2 fast gleich groß wie der Mittelwert. 4 ccm Säure: Auch hier das gleiche Verhältnis wie bei 1 ccm. Auffallend sind die außergewöhnlichen Minima von H_2SiF_6 und HCl (4 ccm Säure).

Arithmetische Methode: 1 ccm: H_2SO_4 28 und 27 grün nur Anfang V. über Mittel, do X/28 braun; HNO_3: über Mittel: X/28 grün, Anfang V u. X/27; VIII/27 u. 28/X braun; HCl: über Mittel: Anfang V, VIII/28 u. 27 grün; VIII/28 braun; H_2SiF_6: über Mittel: Anfang V/28 grün, Anfang V, VIII, X/27 grün, X/28 braun, und VIII/27 braun.

HF: alle Zahlen wenig unter Mittel (meist erst Differenz in 2. Dezimale).

4 ccm: H_2SO_4: über Mittel alle mit Ausnahme von 29. V u. VI/27 u. 28 grün; HNO_3: über Mittel X/28 grün, Anfang V, VIII, X/27 grün, VIII/27 braun, VIII, X/28 braun; HCl: über Mittel: Anfang V, VIII/27 grün, VIII/27 u. 28 braun, X/28 braun; H_2SiF_6: über Mittel: V/28 grün, VIII, X/27 grün, VIII/27 grün; X/28 braun; HF: über Mittel: Anfang V, VIII/28 grün, VIII, X/27 grün, alle braune Nadeln. Bei 1 ccm 16, bei 4 ccm 34 Zahlen über Mittel.

Die übrigen Koniferen.

Schädigungen an den anderen im Untersuchungsgebiete vorkommenden Koniferen sind viel seltener. Die große Einheitlichkeit der Erscheinung,

wie wir sie bei den Föhren sehen, existiert nicht. Dazu ist zunächst zu bemerken, daß es sich bei den Wäldern besonders in der unteren Region um mehr oder weniger reine Föhrenwälder handelt, vereinzelt finden sich dann Fichten und Lärchen vor. Auf besonders trocknen Böden hat sich überall der gemeine Wacholder eingestellt. Steigen wir am Talhang höher, so ändert sich das Bild nach einigen hundert Metern. Die Föhren nehmen immer mehr ab und werden durch Lärchen und Weißtannen ersetzt. Bei stark sonniger Lage stellt sich dann noch Juniperus sabina ein. Die vereinzelten Eiben finden sich insgesamt in der Navizanzeschlucht, wo Luft- und Bodenfeuchtigkeit bedeutend größere sind. Die Fichten sind auch den Lärchenbeständen beigemischt, sie sind aber auch gruppenweise unten in den Talböden zu treffen. Beschädigte Exemplare kommen auch hier vor. So beobachtet man, daß die Mehrzahl der Exemplare des Talbodens kränklich ist. Schönes Jungholz ist selten. Die meisten Bäume sind mit Chermesgallen reichlich besetzt. Vereinzelt trifft man auch braun verfärbte Nadeln an; aber diese Erscheinung ist weniger regelmäßig, wie bei der Föhre. Spitzendürre bedingt durch Valsa und Chermes wurde etwas beobachtet. Die vereinzelt vorkommende Nadelbräune konnte auf jeden Fall nicht sicher mit pilzparasitären Krankheiten in Zusammenhang gebracht werden. Sporenlager sah ich höchst selten und nur vereinzelt. Es besteht auf jeden Fall ein großer Unterschied mit dem Krankheitsbilde der Föhre. Daß Trockenfröste mitwirken, halte ich für recht wahrscheinlich, da die dort überall angelegten Laubholzunterkulturen fast jährlich Frostschäden aufwiesen. Die Erscheinung trat nicht jedes Jahr auf. Bei Bäumen am Hang ist Stockfäule, verursacht durch mechanische Beschädigung der Stammbasis durch herunterrollende Steine reichlich vorhanden. Die Untersuchung konnte somit hier keinen Zusammenhang zwischen Säuregehalt, Pufferung und Krankheitsbefall feststellen; doch sollte untersucht werden, ob die Pufferung gegenüber den fünf zur Untersuchung herangezogenen Säuren eine gleiche oder verschiedene wie bei der Föhre ist, um so ein Argument für die verschiedene Resistenz gegen äußere Faktoren zu finden. Es ist dies auch der Grund, weshalb auch die anderen vorkommenden Koniferen in den Kreis der Untersuchung hereingezogen wurden.

Bei Larix kommen auch selten Verfärbungen vor; Frostschäden wurden bei dieser Art nur zuweilen festgestellt. Die anderen untersuchten Koniferen zeigen ebenfalls selten parasitäre Erkrankungen in unserem Gebiet. Frostschäden beobachtete ich auch bei Abies. Die beiden Juniperus-Arten sind meist gesund, das gleiche ist auch von der Eibe zu sagen.

Picea excelsa.

Auch bei dieser Art beobachtete ich eine Veränderung des Puffergehalts im Laufe des Sommers. Das Minimum verläuft nicht regelmäßig von Ende Mai bis Anfang Juni, sondern sein Auftreten schwankt von Mai bis Oktober, d. h. an allen Untersuchungsdaten können Minima vorkommen.

1 ccm Säure: Das Minimum ist weniger ausgeprägt und findet sich von Mitte Juni bis August; es ist am geringsten bei H_2SiF_6, ganz klein sind die Unterschiede auch bei HF an allen Untersuchungsdaten (erst in der II. Stelle nach dem Komma!). Die Pufferung ist bei den jungen Nadeln geringer als bei den älteren. Das Maximum ist bei 1928 anfangs Mai vorhanden, eine Ausnahme bildet die HF, bei der es erst Ende Oktober eintritt. Bei 1927 schwankt das Maximum von Mai bis Oktober.

Die Empfindlichkeitsskala lautet: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF.

4 ccm Säure: Das bei Pinus gemeldete Vorkommen einer negativen Pufferung kommt auch bei dieser Art vor und zwar gegenüber H_2SiF_6 Ende August. Das Minimum findet sich bei den 1928-Nadeln dreimal Ende August und zweimal Ende Juni. Bei den älteren Nadeln fehlt eine negative Pufferung. Das Minimum wurde konstatiert im Juni, August und dreimal im Oktober. Das Maximum verläuft unregelmäßiger bei beiden Jahrgängen; es verteilt sich auf alle Untersuchungsdaten. 1927 ist in der Mehrzahl der Fälle besser gepuffert als 1928. Die Empfindlichkeitsskala ist ähnlich wie oben: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF.

Beim Vergleich mit den Durchschnittswerten ergeben sich bemerkbare Unterschiede:

1. 1 und 4 ccm Säure: Alle Zahlen mit Ausnahme von denjenigen von H_2SiF_6/1927 stehen über dem Mittel.

2. 1 ccm Säure: 18 unter und 14 über dem Mittel. Unter Mittel H_2SO_4: keine; HNO_3: VIII/28; HCl: VI/28; H_2SiF_6: VI, VIII/27 u. 28; HF: alle unter Mittel.

4 ccm: unter Mittel: H_2SO_4: keine; HNO_3: VIII/28; HCl: VI/28; H_2SiF_6: VI, VIII/28; HF: X/27 u. 28.

Larix europaea.

Zur Untersuchung sind hauptsächlich Nadeln von Kurztrieben verwendet worden. Der ursprüngliche Plan, die beiden Arten von Nadeln getrennt zu untersuchen, mußte aus Materialmangel fallen gelassen werden.

Auch bei dieser Art kommt wieder ein deutliches Minimum vor, das zwar bei den verschiedenen Säuren ungleich stark ausgeprägt ist. Negative Pufferung fehlt hier völlig.

1 ccm Säure: Das Minimum findet sich Ende April und Mitte Mai; eine Ausnahme bildet die HF, bei der wir eine zeitliche Verschiebung auf Ende August beobachten. Wir haben demnach wieder ein mehrheitliches frühjahriges Minimum vor uns. Der Verlauf des Maximums ist viel unregelmäßiger. Dasselbe stellt sich dreimal im Juni und je einmal im April und Oktober ein. Die Empfindlichkeitsskala lautet: H_2SO_4, HCl; HNO_3, H_2SiF_6, HF.

4 ccm Säure. Das Minimum findet sich Mitte Mai, bei der H_2SO_4 tritt eine Verspätung auf den August ein. Das Maximum treffen wir im Juni, bei H_2SO_4 Verschiebung auf Ende Oktober. Die Empfindlichkeitsskala ist gleich wie bei 1 ccm.

Die Durchschnittszahlen ergeben beim Vergleich:

1. 1 u. 4 ccm Säure: alle Zahlen stehen zum Teil sehr hoch über den Mittelwerten.

2. unter Mittel: 1 ccm Säure. H_2SO_4: IV, HNO_3, H_2SiF_6, Mai. HF: alle 4 ccm Säure: HNO_3: V, H_2SiF_6: V, alle HF außer VI.

Abies alba.

Auch bei dieser Art ist wieder das gleiche zu sagen, die beiden Extrempunkte fallen nicht auf das gleiche Datum bei den einzelnen Säuren, sondern verteilen sich auf mehrer Termine. Keine negative Pufferung.

1 ccm Säure: Das Minimum tritt bei den 1928-Nadeln an folgenden Daten auf: dreimal im Mai, einmal im August und im Oktober; bei den äl-

teren Nadeln einmal im Mai, je zweimal im Juni und im August. Auch die Maxima sind während der ganzen Vegetationszeit zu finden: 1928 einmal im Mai, dreimal im Juni und einmal im August. 1927: zweimal im Mai und dreimal im Oktober. — Die Nadeln von 1928 sind besser gepuffert als die von 1927. Die Empfindlichkeitsskalen lauten bei dieser Art:

1927: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6;

1928: HCl, H_2SO_4, HNO_3, HF, H_2SiF_6.

4 ccm Säure: Bei 1928 treffen wir die Minima dreimal im Mai und zweimal im Oktober an, bei 1927: einmal im Mai, dreimal im Juni und einmal im Oktober. Die Maxima wurden bei den jüngeren Nadeln an allen vier Untersuchungsterminen gesichtet, für 1927 gilt das gleiche. Die Empfindlichkeitsskala 1927: H_2SO_4, HNO_3 HCl, H_2SiF_6, HF; 1928: H_2SO_4, HCl, HNO_3, H_2SiF_6, HF. 1927 ist besser gepuffert als 1928.

Die Durchschnittswerte der graphischen Methode (1) werden von allen Werten zum Teil weit überschritten. Bei den arithmetischen Durchschnittszahlen ist der Vergleich weniger eindeutig.

Bei 1. alle über Mittel.

Bei 2. 1 ccm unter Mittel: HNO_3: X/28, H_2SiF_6: VIII/28, VI/27; HF: V, X/28 und alle 1927. 4 ccm: unter Mittel HF: X/28.

Juniperus communis.

Minima und Maxima zeigen auch bei dieser Art kein regelmäßiges Auftreten.

1 ccm Säure: Minimum 1928 dreimal im Mai, je einmal im September und Oktober. Maximum 1928 je zweimal im April und September, einmal im Mai. Die Empfindlichkeitsskala ist die übliche: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6.

Bei den 1927-Nadeln lagen mir aus Materialmangel viel weniger Analysenbefunde vor, sie sagen nur, daß die Pufferung etwas niedriger als bei den älteren Nadeln ist.

4 ccm Säure: 1928 hier ist wieder ein Fall von negativer Pufferung gegenüber H_2SiF_6 vorhanden. Das Minimum ist meist wieder im Frühjahr anzutreffen. Dreimal im Mai, je einmal im Juli und Oktober. Das Maximum ist ein herbstliches: viermal im September und einmal im Juli.

Empfindlichkeitsskala: HNO_3, H_2SO_4, HCl, H_2SiF_6, HF.

1927: Die wenigen Zahlen lassen nur den Schluß zu, daß die älteren Nadeln auch hier schlechter als die jüngeren gepuffert sind.

Der Vergleich mit den Mittelwerten sagt:

1. 1 ccm: unter Mittel HCl; 4 ccm: unter Mittel HCl, HF.

2. unter Mittel: 4 ccm :H_2SO_4: V, VII, X/28; HNO_3: V/27, V, VII/28; HCl: V, VII, X/28, H_2SiF_6: V, IX/27, V/28; HF: IX/27, V, IX, X/28; von 26 Werten 16 unter Mittel. 1 ccm: H_2SO_4: V, VII, X/28, IV, IX/27; HNO_3: V, VII/28, V/27; HCl: V/28; H_2SiF_6: V, IX/28, V/27; HF: V, VII, IX, X/28, IX/27 von 30 Werten 15 unter Mittel.

Juniperus sabina.

Es liegen leider nur vier Analysenreihen vor, da aber die frühjährigen Zahlen zum Teil fehlen, so sind Schlüsse nur mit Vorsicht zulässig.

1 ccm Säure: Das Minimum fällt dreimal auf April und je einmal auf September und Oktober. Das Maximum zeigt sich dreimal im September

und je einmal Juli und Oktober. Die Empfindlichkeitsskala lautet: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF.

4 c c m Säure: Da meine Zahlen erst mit Mitte Juni beginnen, so kann kaum von Minimum und Maximum gesprochen werden. Das Minimum ergab sich viermal im Oktober und einmal im September, das Maximum fällt je einmal auf Juni bis Oktober, dreimal auf September.

Empfindlichkeitsskala: gleich wie bei 1 ccm.

Beim Vergleich mit den Durchschnittswerten ergibt sich: unter Mittel

1. 1 ccm. HF; 4 ccm: H_2SO_4, HF;

2. 1 ccm. H_2SO_4: IV, X, HNO_3: X, HCl: IV; H_2SiF_6: IV, IX, X; HF: alle, d. h. VI, IX, X; 4 ccm: NO_3H: X; H_2SiF_6: X; HF: VI, IX, X.

Taxus baccata.

Auch bei dieser Art liegen nur unvollständige Titrationsreihen vor. Negative Pufferung besteht wiederum gegenüber H_2SiF_6 (1928, VI).

1 c c m Säure: Bei den jüngeren Nadeln ist ein Minimum Mitte Juni vorhanden; eine Ausnahme bildet die H_2SO_4 (hier Oktober). Das Maximum tritt bei jeder Säure an einem anderen Datum auf (zweimal im September). Bei den 1927-Nadeln ist das Minimum viermal im September und zweimal im Juni zu treffen. Die Maxima sind viermal im September und einmal im April vorhanden.

Empfindlichkeitsskala: 1928 H_2SO_4, HNO_3, HCl; H_2SiF_6, HF; 1927 gleich.

4 c c m Säure: Bei den 1928-Nadeln ist das Minimum im Juni und einmal im Oktober vorhanden. Das Maximum an allen drei Daten (dreimal im September). Bei den jüngeren verläuft das Minimum ähnlich wie oben, d. h. zweimal im Juni und dreimal im Oktober. Das Maximum hinwiederum viermal im September und einmal im Juni. Die älteren Nadeln sind besser als die jüngeren gepuffert.

Vergleichen wir noch die Durchschnittswerte, so ergibt sich folgendes:

1. 1 ccm: unter Mittel HNO_3: 28; HF: 27. 4 ccm: unter Mittel H_2SO_4: 28; HNO_3: 28; HF: 27 u. 28.

2. 1 ccm: unter Mittel H_2SO_4: X/28; HNO_3: VI, X/28; HCl: VI/28; H_2SiF_6: VI/28, HF: VI/28, VI, IX, X/27. 4 ccm: unter Mittel H_2SO_4: X/28 u. 27; HNO_3: VI, X/28; HCl: VI/28; H_2SiF_6: VI u. X/28.

Die Rebsorten.

Die jahrelang durchgeführten Beobachtungen ergaben bei dieser Kulturpflanze jährlich zur gleichen Zeit, d. h. Ende Mai bis Anfang Juni, auftretende Verfärbungen der Blätter, bedingt durch Infektionen von Plasmopara und Pseudopeziza. Ihre Erkennung ist oft erschwert, da es sich vielfach um Subinfektionen handelt, die steril bleiben und somit keine typischen Sporen zur Ausbildung bringen. Von Lepik (10) sind dieselben kürzlich einer anatomischen Untersuchung unterworfen worden.

Wir notierten uns über das Auftreten der fraglichen Erscheinung folgende Daten:

1921	8. Juni	1925	6. Juni
1922	5. Juni	1926	10. Juni
1923	6. Juni	1927	4. Juni
1924	31. Mai	1928	31. Mai

Wie lauten nun die Erfahrungen der Praxis in bezug auf diese Termine? Da möchte ich zunächst auf den Gebrauch der Rebbauern hinweisen, die ersten präventiven Spritzungen zu dem Zeitpunkt vorzunehmen, an dem sich die Blütenknospen zu trennen beginnen. Im Mittelwallis hatten sich Spritzbeginn und unsere Beobachtungen weitgehend gedeckt. Jeder Rebbauer weiß, daß in seiner Gegend an bestimmten Punkten die Krankheit regelmäßig zuerst gesichtet wird, solche Punkte mussen zuerst natürlich berücksichtigt werden. Moreau und Vinet (16a) geben als Daten für ihre Versuche in der Anjou den 23.–27. Mai an. Viele eigene Beobachtungen in der Languedoc und anderen südlichen Gegenden Frankreichs lehrten, daß der Winzer immer den 25.—27. Mai als letzten Spritztermin (1. Behandlung) betrachtet. Ähnliche Angaben wurden mir auch in anderen Gegenden Frankreichs gemacht. Es scheint mir nun bemerkenswert, daß diese Daten sowohl für das schweizerische Rhonetal, wie für die Anjou, die südlichen, mediterranen Rebgebiete Frankreichs, Gironde, Elsaß weitgehend übereinstimmen. Der mit den Jahren wechselnde Witterungscharakter scheint also zunächst keine bedeutende zeitliche Verschiebung zu bedingen. Im Gegenteil existiert trotz den klimatischen großen Differenzen hier eine weitgehende Übereinstimmung.

Nach meinen Beobachtungen im Weinberg hatten sich von den 7 zur Untersuchung herangezogenen Varietäten besonders die Sorten Muscat, Gros Rhin (Sylvaner) als besonders empfindlich erwiesen. Die Sorte Fendant (Chasselas, Gutedel) war in ihrem Verhalten fraglich, als neu kam bei der Untersuchung noch die alte Sorte Rèze dazu, die in Siders meist gesund, doch besonders an zwei Lagen regelmäßig solche Subinfektionen zeigte (Fuß des Planzettehügels). Wir erinnern daran, daß nach Aussage von A d. R e y (Wille, 29) die Resistenz der Sorte Rèze ständig zurückgeht. Die Unterlagen spielen natürlich bei den meist gepfropften Reben eine wichtige Rolle; evtl. Differenzen dürften in solchen Unterschieden vielfach ihre Erklärung finden.

Um das Resultat vorwegzunehmen, so ergab die Untersuchung wieder eine weitgehende Bestätigung der früher beschriebenen Beobachtungen (W i l l e , 29), d. h. des Zusammentreffens von Pilzbefalll, niedrigem Säure-Gehalt der Pflanzensäfte, mit der Erweiterung des Hinzutretens der „speziellen" Pufferung, somit also wieder eine neue Charakterisierung der besonderen Verhältnisse an den festgestellten Daten.

Es ist aber hier darauf aufmerksam zu machen, daß aus besonderen Gründen (Erkrankung des Untersuchers) im Juli die regelmäßige Untersuchung leider unterbleiben mußte, so daß wir also keine absolute Vollständigkeit der Saisonkurven besitzen. Der Vergleich der erhaltenen Zahlen mit denen der früheren pH-Bestimmungen gestattet aber wohl den Schluß, daß auch die reduzierte Reihe sehr wohl verwertbar sein wird.

1 c c m S ä u r e. Betrachten wir zunächst das zeitliche Auftreten der vorkommenden Minima und Maxima. Die minimale Pufferung tritt auch bei dieser Art zeitig recht verschieden auf. Bei Fendant, Gros Rhin, Rèze und Muscat fällt sie bei der Mehrzahl der Säuren auf die ersten Tage des Monats Juni. Bei den beiden erst zitierten Varietäten besteht bei HF eine Verschiebung auf das Ende der Vegetationszeit. Bei Rèze zeigt die H_2SO_4 schon eine Verschiebung auf den September und bei Muscat ist diese Verspätung gegenüber Schwefelsäure und Salpetersäure bemerkbar. (Achtung, weil nicht immer Juliresultate vorliegen!). Die anderen untersuchten Varie-

täten weisen das Minimum recht unregelmäßig auf. Bei den beiden Pinotarten — Dôle und Malvoisie — sowie bei Walliserrot tritt das Minimum Juni, Juli und August auf; bei Gouay ist dasselbe größtenteils auf den September verschoben.

Was das Maximum anbetrifft, so ist sein Verlauf regelmäßiger. Dasselbe findet sich meist am Ende der Vegetationszeit im Oktober; doch kommen einzelne Verspätungen im August und September vor. Negative Pufferung treffen wir bei Gros Rhin, Muscat und Rèze gegenüber H_2SiF_6;

Die Empfindlichkeitsskala lautet:

Fendant: H_2SO_4, HCl, HNO_3, H_2SiF_6, HF
Gros Rhin: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Rèze: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Dôle: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Gouay: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Malvoisie: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Walliserrot: HNO_3, H_2SO_4, HCl, H_2SiF_6, HF
Muscat: HNO_3, H_2SO_4, HCl, H_2SiF_6, HF.

4 c c m S ä u r e: Die Resultate dieser Reihe zeigen wieder viel weniger Übereinstimmung. Fendant, Gros Rhin und Muscat haben das Minimum vorzugsweise am Anfang der Vegetationszeit; bei jeder Varietät kommen aber Ausnahmen vor, d. h. das Minimum wird auf einen späteren Zeitpunkt verschoben (meist anfangs August, hinsichtlich HF aber sogar auf September). Die beiden Pinotarten und die Sorte Walliserrot haben ein Minimum im Juli oder August, bei zwei Säuren sogar erst im September. Die Sorte Gouay zeigt wieder am wenigsten Übereinstimmung; das Minimum ist hier einmal im Juli, sonst aber immer erst im September ausgeprägt. Negative Pufferung zeigen Gros Rhin und Muscat gegenüber HCl und H_2SiF_6, Rèze allein gegen die letztere Säure. — Das Maximum tritt vorzugsweise gegen Ende der Vegetationszeit auf. September und Oktober sind die beiden bevorzugten Termine; doch kommen vereinzelte Maxima an allen Untersuchungsdaten vor.

Die Empfindlichkeitsskalen lauten:

Fendant: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Gros Rhin: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6
Rèze: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6
Dôle: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Malvoisie: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Gouay: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Walliserrot: H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF
Muscat: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6.

Der Durchschnittswertvergleich ergibt:

1. 1 c c m: unter Mittel alle mit Ausnahme von HF Walliserrot, wo Gleichheit.
   4 c c m: über Mittel H_2SO_4: Fendant, Gros Rhin; HNO_3: Muscat; HCl: Fendant, Dôle, Malvoisie; H_2SiF_6: keine; HF: keine.
2. 1 c c m: über Mittel:
   Fendant. H_2SO_4: VIII, IX, X; HNO_3: VIII, IX, X; HCl: VIII, X; H_2SiF_6: X; HF: keine.
   Gros Rhin. H_2SO_4: VIII, IX, X; HNO_3: IX, X; HCl: VIII, IX, X; H_2SiF_6: IX, X; HF: IX.
   Rèze. H_2SO_4: VIII, X; HNO_3: VI, IX, X; HCl: VIII, IX, X; H_2SiF_6: VII, X; HF: 0.
   Dôle. H_2SO_4: VI, IX, X; HNO_3: IX, X; HCl: VI, VII, IX, X; H_2SiF_6: X; HF: 0.
   Gouay. H_2So: VII, VIII, X; HNO_3: VI, VIII, IX, X; HCl: VI, VII, IX, X; H_2SiF_6: VIII, X; HF: 0.
   Malvoisie. H_2SO_4: IX, X; NO_3H: VI, IX, X; HCl: VI, VII, VIII, IX, X; H_2SiF_6: IX, X; HF: 0.

Walliserrot. H_2SO_4: X; HNO_3: IX, X; HCl: VI, IX, X; H_2SiF_6: IX, X; HF: IX.
Muscat. H_2SO_4: VI, IX, X; HNO_3: VI, IX, X; HCl: VII, IX, X; H_2SiF_6: IX, X; HF: 0.

4 ccm über Mittel:
Fendant. H_2SO_4: alle; HNO_3: VIII, IX, X; HCl: alle; H_2SiF_6: IX, X; HF: VI, VIII, X.
Gros Rhin. H_2SO_4: VIII, IX, X; HNO_3: VIII, IX, X; HCl: VIII, IX, X; H_2SiF_6: IX, X; HF: VIII.
Rèze. H_2SO_4: alle; HNO_3: alle; HCl: VIII, IX, X; H_2SiF_6: VIII, IX; HF: VIII, IX.
Dôle. H_2SO_4: VI, IX, X; HNO_3: alle; HCl: alle; H_2SiF_6: IX, X; HF: VIII, IX.
Gouay. H_2SO_4: VI, VII, VIII, IX, X; HNO_3: VI, VIII, IX, X; HCl: VI, VII, X; H_2SiF_6: VIII, X; HF: VI, X.
Malvoisie. H_2SO_4: VI, VIII, IX, X; HNO_3: VI, VIII, IX, X; HCl: alle; H_2SiF_6: VIII, IX, X; HF: VI, VII, VIII, IX, X.
Walliserrot. H_2SO_4: VI, IX, X; HNO_3: X; HCl: VI, VIII, X; H_2SiF_6: IX, X; HF: VI, VIII, X.
Muscat: H_2SO_4. alle; HNO_3: alle; HCl: VIII, IX, X; H_2SiF_6: VIII; HF: VIII, VI, X.

In der ersten Vergleichszusammenstellung zeigt sich, daß die Pinotvarietäten und die anderen Rotweine besser gepuffert sind gegenüber der H_2SiF_6, welche ja bei allen meinen Untersuchungen eine gewisse Sonderstellung einnimmt; diese Erscheinung kommt besonders schön bei der Verwendung von 4 ccm Säure zum Ausdruck, aber auch bei der kleineren Säuremenge sind die Unterschiede deutlich.

Die übrigen Laubhölzer.

Wie eingehends erwähnt, sind die vier letzt untersuchten Arten: Birke, Robinie, Zwetschge und Kirsche als Vertreter der Extreme: wenig und stark empfindlich gewählt worden. Betula und Robinia sind mit Vorteil in allen Aufforstungsprojekten der in Frage stehenden Gegend gewählt worden und haben, soweit die kurze Zeit ein Urteil erlaubt, sich gut bewährt. Die erstere Art stellt sich auch vielerorts augenblicklich nach Schlägen und vermehrter Auslichtung als natürlicher Anflug ein. Die geringen Boden- und Feuchtigkeitsansprüche beider Arten geben dazu eine genügende Erklärung ab. Daß von beiden natürlich bessere Böden vorgezogen werden, zeigt sich recht klar in einem besseren Gedeihen der Art. So wies z. B. Robinie auf früheren Brandstellen (auf denen das vor der Aufforstung herumliegende Klein- und Dürrholz zu Säuberungszwecken verbrannt wurde), eine augenfällige Zuwachsvermehrung auf.

Betula verrucosa.

Die Birke hat, trotzdem sie die Hänge in nächster Nähe der Chippiser Werke besiedelt, sich über 20 Jahre gut gehalten. Auf jeden Fall konnte kein Absterben beobachtet werden. Im Gegenteil hat sich auf diesen nährstoffarmen Geröllhalden nach dem ehemaligen Föhrenbestand ein dichter Birkenbestand durch natürlichen Anflug gebildet. Von parasitären Erscheinungen sind die jährlich auftretenden Minierraupen zu erwähnen, die

das ganze Mesophyll herausfressen, so daß nur noch die leicht verfärbten beidseitigen Epidermen übrigbleiben. Die so gebildeten Düten enthalten die Raupenexkremente, so daß der Ursprung sofort klar ersichtlich ist. Weitere leichte Verfärbungen kommen etwa im Frühjahr vor, die aber ohne Bedeutung sind. Sie dürften mit mechanischen Verletzungen bei den in jener Gegend häufigen Föhnstürmen in Zusammenhang zu bringen sein.

1 ccm Säure: Minimalzahlen trifft man im Juli, dann aber auch im Mai und Oktober; auch das Maximum ist ähnlich unregelmäßig. Nach Mai und April kommt auch ein Fall im Oktober.

4 ccm Säure: Bei der Festsetzung der Titrationen ändert sich das Bild. Ein Minimum zu Beginn der Vegetationszeit ist vorhanden (V, VII, X); bei H_2SiF_6 haben wir wieder einen Fall von negativer Pufferung. Auch das Auftreten der Maxima ist regelmäßiger, es ist meist im September ausgeprägt, gegenüber HF aber schon im Mai.

Die Empfindlichkeitsskala lautet für die beiden Titrationen:

1. H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6, HF.
2. H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SOF_6.

Der Vergleich mit den Durchschnittszahlen ergibt:

1. unter Mittel: 1 ccm: alle mit Ausnahme von HNO_3,
   4 ccm: unter Mittel, alle.
2. 1 ccm: unter Mittel, H_2SO_4: VII, IX; HNO_3: IV, V, VII, X; HCl: VII, X; H_2SiF_6: V, VII, IX, X; HF: alle.
   4 ccm: unter Mittel, H_2SO_4: V, VII, X; HNO_3: V, VII, X; HCl: V, VII, X; H_2SiF_4: V, VII, IX, X; HF: alle.

Robinia pseudacacia.

Bei den Robinien wurden keine Schädigungen irgendwelcher Art beobachtet; die Robinia ist für die trockenen Boden wie geschaffen. Daß sie als Leguminose auf kalkarmen Böden großere Schwierigkeiten zu ihrer Entwicklung hat, ist klar. Gerade die reinen Quarzitböden oberhalb und sudlich des Chippiser Werks bereiten ihr vielfache Hemmungen.

1 ccm Säure: Weder Minimum noch Maximum zeigen eine gewisse Regelmäßigkeit; sie sind auf die verschiedenen Monate verteilt; negative Pufferung fehlt. Die Empfindlichkeitsskala lautet: H_2SO_4, NHO_3, HCl, H_2SiF_6, HF.

4 ccm Säure: Das Minimum ist hier wieder ausgeprägter, d. h. es konzentriert sich wiederum auf die Monate Mai und Juni. Das gleiche gilt für das Maximum; dasselbe tritt meist im September auf. Die Empfindlichkeitsskala ist identisch, wie oben.

Auch bei den Durchschnittswerten beobachten wir eine Vereinheitlichung:

1. 1 und 4 ccm: über Mittel alle;
2. 1 ccm: unter Mittel, H_2SO_4: 0; HNO_3: VI, X; HCl: V; H_2SiF_6: 0; HF: V, X.
   4 ccm: unter Mittel, H_2SO_4: 0; HNO_3: V; HCl: V; H_2SiF_6: VI; HF: 0.

Prunus avium et P. domestica.

Die beiden Prunusarten sind im Bezirk Siders recht empfindlich. Trockenheit, Wind, Bodenverhältnisse äußern sich zuweilen in recht charak-

teristischer Weise. Die früher beschriebenen Föhnschäden, die richtige Föhnformen bedingen, wurden zunächst an Zwetschge beobachtet, und ihre Natur festgestellt. Die Ostseiten sind nach starken Stürmen wie mit Feuer verbrannt, und in der Folge ergibt sich eine dem Föhn abgekehrte Baumform, die im Gegensatz zu den durch den konstanten Talwind geformten Bäumen entstanden ist. Bei den Kirschen sind Trockenperioden, schlechte Bodenverhältnisse gut am allgemeinen Aussehen des Laubes zu beobachten. Die Kirsche ist zwar auch im Talboden des Mittelwallis relativ selten; wenn vorhanden, beschränkt sie sich vorzugsweise auf den Fuß des Schattenhangs; sie ist aber viel häufiger auf den Terrassen zu treffen, die ja meist auch bewässert sind. Von parasitären Erscheinungen erwähnen wir die relativ häufige Gnomonia erythrostoma und das Clasterosporium carpophilum; häufig sind Minierraupen. Die Zwetschge scheint im Gegensatz hierzu recht günstige Bedingungen zu finden. Sie ist recht häufig in Weinbergen und längs Bewässerungskanälen; da die Reben vielerorts bewässert werden, dürfte so die künstliche Bodenfeuchtigkeit genügen. Die als beschädigt beobachteten Bäume befinden sich dort, wo diese günstigen Bedingungen nicht vorhanden sind, so besonders in Grundstücken mit hoch heraufreichender Kiesunterlage usw. Parasitäre Krankheiten sind selten; am häufigsten ist noch das Polystigma rubrum, das in manchen Jahren fast alle Blätter einzelner Bäume infiziert. Borkenkäfer befallen hauptsächlich durch Trockenheit geschwächte Bäume. Da solche schwächliche Exemplare immer wieder als rauchgeschädigt angesprochen wurden, so nahmen wir an, daß diese Art sich besonders gut für unsere Untersuchung eignen werde.

1 ccm Säure: Bei Kirsche ist kein ausgesprochenes Minimum vorhanden, dasselbe tritt bei jeder Säure in einem andern Monat auf; etwas ähnliches gilt für das Maximum, dasselbe ist bei dieser Art eher ein frühjahrliches. Bei Zwetschge haben wir Minimum gegenüber HNO_3 und HCl im April und zeitliche Verschiebung bei den drei anderen Säuren. Das Maximum findet sich wieder regelmäßiger in der Mehrzahl der Fälle gegen das Ende der Vegetationszeit hin. Die Empfindlichkeitsskalen sind die normalen bei beiden Arten mit der HF als Endglied.

4 ccm Säure: Bei der Kirsche beobachten wir wieder ein mehr frühjahrliches Minimum (IV u. V) mit negativer Pufferung gegenüber H_2SiF_6. Das Maximum ist auf den Herbst hin konzentriert. Ähnliche Verhältnisse liegen auch bei Zwetschge: Minimum im Frühjahr und Maximum gegen den Herbst hin; eine negative Pufferung existiert hier nicht. Die Empfindlichkeitsskalen lauten:

Zwetschge: H_2SO_4, HCl, HNO_3, H_2SiF_6, HF; Kirsche: H_2SO_4, HNO_3, HCl, HF, H_2SiF_6.

Die Durchschnittswerte sind auch hier recht einheitlich:

1. Zwetschge: 1 u. 4 ccm alle über Mittel,
   Kirsche: 1 ccm alle über Mittel; 4 ccm: H_2SO_4. H_2SiF_6, HF wenig unter Mittel.
2. 1 ccm: unter Mittel
   Zwetschge. H_2SO_4: VI, IX; HNO_3: V, IV, VI; HCl: 0; H_2SiF_6: VI, IX; HF: alle,
   Kirsche. H_2SO_4: V, VII; HNO_3: IV, VII, X; HCl: IV, V, VII; H_2SiF_6: VII, IX; HF: VII, IX, X.

4 ccm: unter Mittel
Zwetschge. H_2SO_4: V; HNO_3: IV, V, VI; HCl: V; H_2SiF_6: VI; HF: IV, V, IX.
Kirsche. H_2SO_4: IV, V, VII; HNO_3: IV, V, X; HCl: IV, V, VII; H_2SiF_6: IV, V, VII, X; HF: IV, VII, IX, X.

7. Puffersubstanzen.

Über die Beschaffenheit der Puffersubstanzen wurden von mir selbst keine Untersuchungen angestellt. Es kann sich hier nur um eine Zusammenstellung aus der Literatur handeln. Systematische Analysen über die Veränderungen der Asche und der anderen wesentlichen Substanzen während einer Vegetationsperiode existieren meines Wissens nicht.

Dem Handbuch von Czapek (2) entnehme ich einige allgemeine Angaben: K_2O nimmt ständig zu, erst gegen Ende der Vegetationszeit ist ein Abfall festzustellen. Na_2O macht die Schwankungen des K_2O mehr oder weniger deutlich nach. CaO nimmt ständig zu. Ähnlich verhält sich MgO, aber in nicht so starkem Maße. SO_3 bleibt immer gleich; eine Ausnahme bildet Prunus avium, bei welcher Pflanze eine Zunahme vom Frühjahr bis in den Herbst hinein gefunden wurde. P_2O_5: Abnahme vom April bis Herbst, oder anfängliche Zunahme und dann ständiger Abfall. Das Problem der herbstlichen Abwanderung der Aschenbestandteile hat eine reichliche Literatur gezeitigt. Da aber meist die Frühjahrszahlen fehlen, so lassen sich die Zahlen der Unvollständigkeit wegen nicht verwenden. Die Gesamtasche nimmt mit steigendem Alter zu (24).

Einige Arbeiten geben für unseren Zweck nähere Anhaltspunkte. So hat Bauer (1) alte und junge Nadeln von Koniferen auf ihren Aschengehalt untersucht. Seine Termine decken sich etwa mit den meinigen. Bezeichnen wir als Alkaleszenz (CaO + MgO) − P_2O_5, so können wir seiner Arbeit folgende Zahlen entnehmen:

Larche		Fichte (junge Nadel)		Fichte (alte Nadel)	
21. V.	7,15	22. V.	−,014	27. II.	21,86
9. VIII.	13,04	9. VII.	8,81	22. V.	41,40
17. IX.	11,76	17. IX.	23,81	9. VIII.	34,3
17. X.	9,14	17. XI.	19,76	17. IX.	47,92
				17. XI.	40,53

Tanne (junge Nadel)		Tanne (alte Nadel)	
		10. III.	15,2
14. V.	5,31	14. V.	15,83
10. VII.	5,75	10. VII.	17,93
18. IX.	5,75	18. IX.	20,71
23. XI.	12,79	23. XI.	18,78

Fohre (junge Nadel)		Fohre (alte Nadel)	
20. V.	5,21	11. III.	17,27
9. VII.	9,07	22. V.	29,02
17. IX.	10,56	9. VII.	28,88
17. XI.	10,59		

Eine völlige Zusammenstellung der Differenz Basen-Säuren ist unmöglich, da der Autor nicht alle Säuren aufgeführt hat. Die kurze Zusammenstellung zeigt, daß Mitte Mai besondere Verhältnisse vorliegen, die sich in einer niedrigen Alkaleszenz ausdrücken. Das negative Ergebnis bei den

jungen Fichtennadeln wird durch einen vermehrten K_2O-Gehalt kompensiert.

Dann existieren noch eine Reihe von Analysenbefunden der beiden Forscher Grandeau und Fliche, die alle bei Czapek (2) in extenso zu finden sind; auf ihre Wiedergabe glauben wir verzichten zu können.

Für unsere Spezialfrage nach der Ursache der Pufferwirkung wären vollständige Analysen anzufertigen.

8. Pufferung und Rauchschäden.

Die Aufgabe dieser Untersuchungen war, vermehrte Klarheit in den verworrenen Chippiser Rauchschadenkomplex zu bringen. Da sich die üblichen chemisch-analytischen, aber auch botanisch-anatomischen Methoden nicht gut für die Entwirrung unseres Problems eigneten, sollte versucht werden, durch Ausprobieren anderer in der Biologie gebräuchlicher Methoden vorwärtszukommen.

Zuerst ist mit den p_H-Untersuchungen begonnen worden, indem bei einer vermeintlichen Vergiftung durch saure Gase sich diese zuerst in einem erhöhten Säuregehalt der betroffenen Organismen zeigen müßte. Die Untersuchungen (Wille, 29) ergaben aber nicht die erwartete starke Säurezunahme, sondern nur eine natürliche Periodizität des Säureverlaufs und dessen zeitlichen Zusammenfallens mit dem Krankheitsbeginn (geringster Säure-Gehalt und Krankheitsbeginn gleichzeitig!). Da sich aber einige Unstimmigkeiten in den p_H-Resultaten einstellten und vor allem die Differenzen im p_H der immunen und empfindlichen Sorten nicht recht klar waren, sollte dieser Fall durch das Herbeiziehen der Pufferung erweitert werden. Es war zu untersuchen, wieweit überhaupt die Pflanzensäfte gegen saure Beeinflussung geeicht seien und wie lange sie selbst eine Reaktionsänderung verhindern vermögen. Als Nebenfrage ergab sich: sind bei Rauchschaden auch Reaktionsänderungen vorhanden oder sind die Pflanzen so gut gepuffert, daß erst größere Konzentrationen zu Reaktionsänderungen in Preßsäften führen werden. Wenn ich mir auch sagen mußte, daß das äußerst säureempfindliche Assimilationssystem (spez. die Chloroplasten) so große Säuremengen nicht vertragen werde (Noack, 19), so glaube ich doch, daß die Puffergröße uns, da es sich um das Absterben ganzer Organe und sogar Individuen handelt, doch interessante Aufschlüsse geben kann, die eine Beantwortung dieses Problems wieder etwas fördern helfen und so eine Vertiefung bringen.

Die Empfindlichkeitsskala, berechnet aus der Puffergröße nach den beiden Berechnungsarten 1 und 2, ist zuerst zu berücksichtigen. Ich rekapituliere der Einfachheit halber die gefundenen Durchschnittsrelativwerte: H_2SO_4: 4,85; HNO_3: 4,08; HCl: 3,4; H_2SiF_6: 1,45; HF: 1. Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß die Pufferung von Pflanzensäften gegenüber gleich großen N-Säuremengen verschieden stark ist, und daß die Eigenreaktion der Pflanzensäfte gegenüber den beiden F-haltigen Säuren am schnellsten verändert wird. Daß wir aber gegenüber weiteren Schlußfolgerungen vorsichtig sein müssen, zeigen die Ergebnisse mit negativer Pufferung. Eine solche ist zunächst häufiger bei der größeren Titrationssäuremenge. Negative Pufferung wurde beobachtet gegenüber H_2SiF_6: 5- resp. 14 mal (I. Zahl = 1 ccm, II. Zahl = 4 ccm Säure); gegenüber HCl: 1- resp. 4 mal; und

gegen HNO_3: 0- resp. 1 mal, und zwar bei den folgenden Pflanzen: 1 ccm: Pinus, Vitis vinifera, Gros Rhin, Muscat, Rèze; 4 ccm die gleichen, sowie Picea, Juniperus communis, Taxus, Betula und Prunus avium. Negative Pufferung fand sich aber nie bei HF. Die Schwankungen an den verschiedenen Untersuchungsterminen waren bei HF mit wenigen Ausnahmen — (maximal: 1 : 2,7) klein.

Eine genaue Auskunft sollte uns Pinus geben, wobei alte und junge, gesunde und kranke Nadeln untersucht werden konnten. Gegen die Verminderung der Puffergröße bei Krankheit spricht die Differenz zwischen braunen und grünen, d. h. kranken und gesunden Nadeln. Dieselben lauten: am Anfang Juni: H_2SO_4: braun: + 0,26/2, 408; HNO_3: — 0,14/— 3, 358; HCl: 0, 618/0, 839; H_2SiF_6: 0, 132/2, 1076; HF: 0, 0017/0, 1955.

Da in unserem Falle HNO_3-Schäden nicht in Betracht kommen (1928, keine N-haltigen Abgase), so muß dieses Resultat eine andere unbekannte Ursache haben. Diskutabel ist auch die Frage, ob 1 oder 4 ccm Säure verwendet werden sollen. Die Reihe beweist, daß durch eine der in Frage kommenden Krankheiten die Pufferung nicht herabgesetzt wird.. Wichtig ist dann, daß das Vorkommen der negativen Pufferung zeitlich beschränkt ist, diese war meist Ende Mai bis Anfang Juni zu treffen. Es ist dies der Zeitpunkt, an dem das Auftreten der beiden Hauptkrankheiten bei Pinus und bei Vitis seit Jahren mit großer Regelmäßigkeit festgestellt worden ist und der wenigstens für Plasmopara auch für andere westeuropäische Verhältnisse übereinzustimmen scheint.

Was nun die fünf anderen Pflanzen anbetrifft, bei denen kein Zusammenhang mit parasitären Krankheiten festgestellt werden konnte, so ist dazu zu sagen: Picea: Das Auftreten von negativer Pufferung bildet wegen der zeitlichen Verschiebung auf Ende August eine völlige Sonderstellung gegenüber den anderen Pflanzen. Pilzkrankheiten treten bei der Trockenheit des Monats August in jener Gegend überhaupt nicht auf; ebensowenig konnte an diesem Zeitpunkt ein Zusammenhang mit Rauchschäden konstruiert werden.

Bei Juniperus communis kamen Verfärbungen zwar hie und da vor, doch ist darauf nicht geachtet worden, weil der Pflanze jeder wirtschaftliche Nutzen abgeht und sie mehr als „Forstunkraut" bezeichnet werden darf. Taxus war immer gesund, irgendwelcher Zusammenhang ist nicht ersichtlich. Bei Betula sind die Verhältnisse wieder anders; die Pflanze gilt als rauchhart im Mittelwallis; d. h. unempfindlich gegen die verschieden starken vegetationsschädlichen Einflüsse von Boden und Klima. Vereinzelte Verfärbungen hinter dem Werk wurden zwar beobachtet. Das Untersuchungsmaterial stammte vom alten Werk am Eingang in die Navizanzeschlucht. Prunus avium war ein häufiges Diskussionsobjekt; bei dieser Art kamen zwar auch pilzliche Krankheiten vor, viel häufiger waren aber Trockenheitsschäden. Zum Schlusse möchte ich betonen, daß die negative Pufferung bei diesen Arten erst bei 4 ccm Säure auftritt, also bei einer Konzentration, wie sie in der Natur überhaupt höchst selten vorkommen dürfte.

9. Zusammenstellung der Resultate.

Koppel und Spiro haben die Pufferung mathematisch formuliert. Wir haben in unserer Untersuchung einen abgeänderten Begriff verwendet. Pufferung ist der Konzentrationsunterschied bei der Titration

von reinen Säurelösungen und von Pflanzenpreßsäften von gleichem Volumen und gleicher Säurekonzentration. Die Titration wurde mit N-Lösungen von H_2SO_4, HNO_3, HCl, H_2SiF_6 und HF ausgeführt. Die Pufferung weist im Laufe der Vegetationszeit stark ausgeprägte Veränderungen auf. Meist können deutliche Minima und Maxima unterschieden werden. Der in einer früheren Arbeit aufgefundene Zusammenhang zwischen niedrigem Säuregehalt und Krankheitsbefall sollte durch die Einführung der Pufferbestimmung erweitert werden. Eine Parallelität zwischen der p_H- und der Pufferkurve existiert aber nicht.

Bei den Koniferen zeigt zunächst Pinus silvestris besondere Verhältnisse. Das „gefährliche Stadium", Ende Mai bis Anfang Juni, in dem regelmäßig die Infektionen von Lophodermium und Hypodermella sichtbar werden, ist neben dem besonderen p_H-Gehalt charakterisiert durch auffällig geringe Pufferung. Dieselbe beträgt bei vier Säuren die Hälfte, ein Drittel oder noch weniger des normalen Wertes, eine Ausnahme macht hier HF, bei welcher Säure die Pufferung und ihre Unterschiede geringer sind. Dazu kommt als Novum die negative Pufferung, welche besonders bei H_2SiF_6, dann aber auch bei HCl und HNO_3 an den fraglichen Daten eintritt. Es ist das der Zeitpunkt, an dem schon von anderer Seite kleiner Aschengehalt, größte Kohlensäureassimilation und von mir geringer Säure-Gehalt festgestellt worden sind. Bei den anderen Koniferen kommt es auch zu einem Minimum, dasselbe ist aber nicht so stark ausgeprägt bei den einzelnen Säuren wie bei Pinus mit Ausnahme von H_2SiF_6, ebenso treffen wir negative Pufferung, aber diese ist weniger häufiger und tritt erst bei Verwendung von 4 ccm Säure auf. Bei Picea ist die negative Pufferung zudem noch zeitlich auf das Ende des Monats August verschoben. Juniperus communis und Taxus als weitere Repräsentanten zeigen diese Erscheinung auch im Spätfrühjahr. Die jungen Nadeln sind im allgemeinen schlechter gepuffert als die älteren. Kranke, braune Nadeln von Pinus sind meist besser gepuffert als die gesunden grünen des gleichen Jahrgangs. Ähnliche Verhältnisse bestehen auch bei den Laubhölzern. Speziell die verschiedenen Rebsorten sind instruktiv. Auch hier wieder Zusammenfallen von niedrigem p_H-Gehalt, niedrigster Puffergröße und Auftreten von Plasmopara und Pseudopeziza im nämlichen Zeitintervall — Ende Mai bis Anfang Juni —. Die stark empfindlichen Sorten Gros Rhin, Muscat und Rèze zeigen besonders deutliche Minima, dazu gegenüber H_2SiF_6 negative Pufferung; bei den weniger anfälligen Sorten weniger stark ausgeprägte Minima oder zum Teil zeitliche Verschiebung desselben auf einen späteren Zeitpunkt. Von den anderen untersuchten Laubhölzern zeigen bei 4 ccm Säure Betula und Prunus avium gegen H_2SiF_6 auch wieder negative Pufferung. Nimmt man die arithmetischen Mittel von sämtlichen untersuchten Pflanzensaftanalysen, so ergibt sich die folgende Empfindlichkeitsskala, die in Relativzahlen ausgedrückt, lautet: H_2SO_4: 4,85; HNO_3: 4,08; HCl: 3,4; H_2SiF_6: 1,45; HF: 1. Diese Durchschnittszahlen ermöglichen instruktive Vergleiche. Die Zahlen der graphischen Darstellung sind übersichtlicher. 1 ccm: Die Zahlen von Pinus stehen meist unter Mittel, oder nur wenig über demselben. Diejenigen der anderen Koniferen befinden sich meist über dem Durchschnitt oder nur wenig unter demselben. Alle Rebsorten stehen unter Mittel, alle übrigen Laubhölzer, mit Ausnahme von Birke, über demselben. Bei 4 ccm Säure sind die Verhältnisse nicht mehr so einheitlich. Die Koniferen sind gleich, wie oben,

mit Ausnahme von Taxus 28 gegenüber H_2SO_4 und HNO_3 und Juniperus und J. sabina gegenüber H_2SO_4 und HF. Ähnlich stimmen wieder die Rebvarietäten mit Ausnahme von 5 Zahlen, die über dem Mittel stehen. Bei den übrigen Laubhölzern machen Kirsche und Birke weitere Ausnahmen; sie stehen unter den Mittelwerten. Die Entstehung der Pufferung ist nicht bekannt, die vorhandenen Aschen- und sonstigen Analysen genügen nicht, um sich mit einer gewissen Sicherheit äußern zu können. Daher ist nur eine statistische Behandlung des Problems möglich. Die früheren p_H-Bestimmungen haben eine wichtige Erweiterung erfahren: auf jeden Fall sind die Unterschiede der Puffergröße bedeutend klarer, als diejenigen, welche wir seinerzeit bei den p_H-Bestimmungen nachweisen konnten. Die Hypothese der Existenz eines besonderen zeitlich und physiologisch charakterisierten Punktes im Lebensrhythmus der Pflanze, auf welchen sich die Biologie eines Parasiten bei Pinus und bei Vitis angepaßt hat, ist durch die vorliegende Untersuchung erneut erwiesen. (Zusammenfallen von niedrigem Säure-Gehalt, niedriger, sogar oft negativer Pufferung; niedriger Aschengehalt und reichlicher CO_2-Assimilation). Die Empfindlichkeitsskalen bei den einzelnen Pflanzen sind verschieden von der allgemeinen aus sämtlichen untersuchten Pflanzen ermittelten Säurekurve. Die ± große Pufferung spricht gegen eine Bezeichnung dieser Erscheinungen als Reaktionskrankheiten. Immerhin sind die beiden untersuchten F-haltigen Säuren weniger gut gepuffert. Da aber in der Natur so hohe Konzentrationen meist ausgeschlossen sind, so dürfte schon aus diesen Gründen die oben aufgestellte Behauptung zu Recht bestehen.

Nachsatz: Ob im Pflanzenschutz künstliche Reaktionsänderungen bei Wirtspflanzen hervorgerufen werden können, denen prophylaktische oder gar theropeutische Bedeutung zukommt, ist ein Problem der Zukunft. Daß der Reaktion der Spritzbrühen eine wichtige Rolle zusteht, ist bekannt. Bordeauxbrühe soll leicht alkalisch sein. In der Praxis wird aber bei starken Plasmopara infektionen anders verfahren, man benützt bis 4% $CuSO_4$-Lösungen und kann damit die Krankheit zum Stillstand bringen. Das Laubwerk wird vielfach beschädigt; aber allem Anschein nach existieren wichtige Nachwirkungen, die in obigen Untersuchungen vielleicht ihre Erklärung finden (Beobachtungen aus der Languedoc und dem Elsaß). Die ganze Frage muß experimentell geklärt werden.

Vorliegende Untersuchungen wurden ausgeführt in den Laboratorien der Aluminium-Industrie-A.-G. Neuhausen, Filiale Chippis. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Direktor Dr. J. Weber für die Gewährung der nötigen Kredite auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank zu wiederholen.

Literaturverzeichnis.

1. Bauer, H., Stoffbildung und Stoffaufnahme in jungen Nadelhölzern. (Nat. Ztschr. f. Landw. u. Forstw. Bd. 8. 1910. S. 456.) — 2. Czapek, Biochemie der Pflanzen. I—III. 1913—1922. Jena. — 3. Eder, R., und Kutter, F., Gleichgewicht der Milchsäure und Milchsäureanhydrid in Handelsmilchsäure. (Helv. chim. act. Bd. 9. 1926. S. 355.) — 3a. Fischer, E., und Gäumann, E., Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena 1929. — 4. Grandeau et Fliche, Ann. Stat. Agron. de l'Est. 1878. — 5. Hesselmann, H., Studien über die Humusdecke des Nadelwaldes, ihre Eigenschaften und deren Abhängigkeit vom Waldbau. (Meddel. fr. Stat. Skogsfoersoekanstalt. Bd. 22. 1926. S. 5.) [Schwedisch m. dtsch. Résumé.] — 6. Jancke, O., Die Anfälligkeit verschiedener Pflanzen gegenüber tierischen und pflanzlichen Schädlingen und die Wasserstoffionen-

konzentration ihres Zellsaftes. (Phytopath. Ztschr. Bd. 2. 1930. S. 181—198.) — 7. Jancke, O., Zur rechnerischen Auswertung von ph-Untersuchungen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 3. 1931. S. 335—339.) — 8. Koppel und Spiro, K., Über die Wirkung von Moderatoren (Puffern) bei der Verschiebung des Säurebasen-Gleichgewichts in biologischen Flüssigkeiten. (Biochem. Ztschr. Bd. 65. 1914. S. 409.) — 9. Kroemer, K., Die Rebe, ihr Bau und ihr Leben. Berlin 1923. — 10. Lepik, E., Anatomische Untersuchungen uber die durch Plasmopara viticola erzeugten Subinfektionen. (Mit. phytopath. Versuchsst. Tartu. Nr. 8. 1931. S. 27.) — 11. Leuthardt, Frz., Pufferkapazität und Pflanzensäfte. (Kolloidchem. Beih. Bd. 25. S. 19.) — 12. Löffler, W., und Spiro, K., Über die Wasserstoff- und Hydroxylionengleichgewichte in Lösungen. (Helv. chim. acta. Bd. 2. 1919. S. 417.) — 13. Matula, J., Tabellen fur elektrometrische Ionenkonzentrationsbestimmungen. Dresden 1911. — 14. Michaelis, L., Die Wasserstoffionenkonzentration. 1922. — 15. Mislowitzer, E., Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration von Flüssigkeiten. Berlin 1928. — 16. Molisch, H., Aschenbild und Pflanzenverwandtschaft. (Sitzber. Akad. Wiss. Wien. Bd. 129. Abt. I. 1920.) — 16a. Moreau, E., et Vinet, E., Rev. agricult. de France. 1931. p. 125—126. — 17. Moser, H., Pufferstudien. I. Pufferkapazität und biochemische Wirkung. (Helv. chim. acta. Bd. 9. 1926. S. 416.) — 18. Moser, H., Pufferstudien. V. Pufferstudien Natriumfluorid. (Helv. chim. acta. Bd. 10. 1927. S. 322.) — 19. Noack, K., Untersuchungen über die Rauchschaden der Vegetation. (Ztschr. f. angew. Chem. Bd. 42. 1929. S. 123—126.) — 20. Noyes und Mach Innes, Journ. Amer. Chim. Soc. Vol. 42. 1920. p. 239.) — 21. Richter, O., Mineralstoffgehalt der Obstbaumblätter in verschiedenen Wachstumszeiten, Gehalt der Blattknospen, verglichen mit demjenigen der Blütenknospen. Beiträge zur herbstlichen Entleerung. (Landw. Versuchsst. Bd. 73. 1910.) — 22. Sertz, O., Mit. Sächs. forstl. Versuchsst. Tharandt. Bd. 1. 1918. S. 80.) — 23. Spiro, und Mitarbeiter, Elektrostatik in der Biochemie. (Kolloidchem. Beih. Bd. 28. 1929. Heft 7—10.) — 24. Swart, N., Die Stoffabwanderung in ablebenden Blättern. Jena 1914. — 25. Treadwell, W. D., und Kohl, A., Ein Beitrag zur analytischen Bestimmung des Fluorions. (Helv. chim. acta. Bd. 9. 1926. S. 470.) — 26. van Slyke, Journ. Biol. Chim. Vol. 52. 1922. p. 525.) — 27. Täufel und Wagner, Biochem. Ztschr. Bd. 177. 1927. S. 389. — 28. Wehmer, O., Die Pflanzenstoffe. Jena 1913. — 29. Wille, F., Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Immunität und Reaktion des Zellsaftes. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 37. 1927. S. 129.)

Nachdruck verboten.

Über eine sporogene Milchsäurebakterienart, Lactobacillus sporogenes n. sp.

Von Prof. Dr. **L. M. Horowitz-Wlassowa** und **N. W. Nowotelnow** (Leningrad).

Mit 1 Abbildung im Text.

Bei der Nachprüfung des Verfahrens, das Beckmann[1]) für die Gewinnung von Öl aus Ölsamen angegeben hatte, haben wir einen Stamm angewandt, der in einem akademischen Laboratorium als B. Delbrücki jahrelang aufbewahrt worden ist. Der Stamm besaß tatsächlich beinahe alle Eigenschaften der erwähnten Art und erwies sich in Versuchen mit Ölsamen als leistungsfähig[2]). Es ist ein langes, schlankes Stäbchen, 3—5 μ lang, 0,6 μ breit, das in ungünstigen Verhältnissen (spärliche Nahrung, starke Azidität) usw. sehr lange, gerade oder gewundene, häufig kernhaltige Fäden bildet. Die Stäbchen sind unbeweglich, grampositiv und ergeben

[1]) Beckmann, Industrial and Engineering Chemistry. Vol. 22. 1930.

[2]) Horowitz-Wlassowa und Nowotelnow, Arb. des Nahrungsmittel-Institutes. 1932. [Russisch.]

kein Wachstum in gewöhnlichen Fleischbrühenährmedien. Auf Würzeagar dagegen ist das Wachstum üppiger als es sonst für den typischen B. Delbrücki der Fall ist; dasselbe gilt für die mit pflanzlichen Extrakten hergestellten Nährsubstrate. Diese Art zerlegt unter starker Säurebildung Zucker, namentlich Glukose, Laktose, Saccharose, Alkohole, wie Mannit, Pentosen, wie Arabinose, auch Polysaccharide, wie Stärke und Dextrin.

Proteolytische Wirkung fehlt (Ausbleiben der Verflüssigung mit pflanzlichen Extrakten hergestellter Gelatine); die Art bewirkt aber die tiefere Spaltung der Polypeptide, wie aus der Analyse der Kultur im Hanfextrakt ersichtlich ist.

Beachtenswert ist sein Verhalten gegen die Milch, wo die Vermehrung tagelang ausbleibt; wird aber der ph-Wert der Milch durch Zusatz von 0,05—0,1—0,2% von Milchsäure bis 6,0—5,25 herabgesetzt, so kommt diese Art gut zur Entwicklung und ruft nach ein paar Tagen die Gerinnung der Milch hervor.

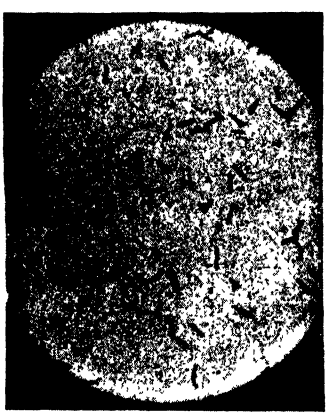


Abb. 1.

Es lag darum der Gedanke nahe, daß das Ausbleiben des Wachstums auf üblichen Nährmedien ebenfalls vom ph-Werte abhängig ist — tatsächlich erwies es sich, daß es bei Zusatz von 0,1—0,2% Milchsäure zu Fleischbrüheagar gelingt, das Wachstum dieser Art auf diesem Nährsubstrat zu fördern.

Die Züchtung unter diesen Verhältnissen ließ folgende neue Erscheinungen beobachten: diese Stäbchen wiesen eine deutliche Beweglichkeit auf und bildeten ovale, terminale Sporen. Um jeden Zweifel über die mögliche Verunreinigung zu beseitigen, wurden einerseits mehrere Aussaaten einer und derselben Kolonie ausgeführt, anderseits ursprünglich unbewegliche, sporenlose Kulturen auf Milchsäureagar gezüchtet: die Resultate bestätigten die obige Beobachtung. Es war also die Voraussetzung berechtigt, daß die Sporenbildung und die Beweglichkeit nur in glukosefreien Nährmedien zutage treten: tatsächlich konnten wir niemals diese beiden Merkmale in Würzemedien, in der Milch, in glukosehaltigen, mit pflanzlichen Extrakten hergestellten Nährsubstraten konstatieren.

Um den Einfluß der Glukose auf diese Erscheinung zu erörtern, wurde eine Serie der Agarröhrchen mit Zusatz von 0,2% Milchsäure und steigenden Mengen von Glukose (0,1, 0,25, 0,5, 0,75 und 1,0%) mit der betreffenden Art beschickt: es erwies sich nach der Bebrütung während 24 Std. bei 50°, daß in ersteren 3 Röhrchen, wo Zucker völlig vergärt worden ist, so daß die Fehlingsche Reaktion negativ ausfiel, die Sporenbildung stattfand; in den 2 letzteren dagegen, wo Zucker noch übrig blieb, fehlte sie vollkommen. Wir müssen also annehmen, daß es sich wirklich um einen neuen sporogenen Milchsäurebildner handelt, der in glukosehaltigen Nährmedien unbeweglich ist und keine Sporen bildet und auf diese Weise den B. Delbrücki vortäuscht, um so mehr, als er ebenfalls fakultativ anaerob und thermophil ist und namentlich bei 50° recht gut gedeiht.

Um die chemischen Leistungen dieser Art zu prüfen, wurden 7 Tage alte Kulturen in Fleischbrühe mit Zusatz von 0,2% Milchsäure und 5%

Glukose chemisch untersucht. Es erwies sich, daß die vergärte Glukose äquivalente Mengen von Milchsäure ergab, d. h., diese Art, die wir als Lactobacillus sporogenes bezeichnen, soll als ein echter Milchsäurebildner angesehen werden. Die von ihm gebildeten Milchsäuremengen steigen in Kulturen über 2%.

Nachdruck verboten.

Über die Azetoïngärung.

Von Prof. Dr. **L. M. Horowitz-Wlassowa** und **E. A. Rodionowa** (Leningrad).

Mit 1 Abbildung im Text.

Es ist schon seit langem bekannt, daß einige Bakterienarten imstande sind, in zuckerhaltigen Nährmedien Azetylmethylkarbinol (oder Azetoïn) zu bilden. Péré (1) (1896) war der erste, der in Kulturen von B. subtilis die Entstehung eines aldehydartigen Körpers nachgewiesen hat, den er irrtümlich für Glyzerinaldehyd hielt; dieselbe Beobachtung wurde für den B. mesentericus vulgatus und Tyrothrix gemacht. Grimbert (2) hat eine Bakterienart (B. tartricus) beschrieben, die diese Eigenschaft ebenfalls besitzen soll. Desmots (3) hat Azetoïn in Subtilis-Kulturen direkt nachgewiesen. Harden und Norris (4) konnten die Bildung dieses Stoffes in Kulturen von B. lactis aerogenes und B. cloacae nachweisen, Kluyver, Donker und Visser 't Hoft (5), Neuberg und Reinfurth (6), Neuberg und Gorr (7), Hirsch (8), Elion (9, 10) in Hefekulturen; Schmalfuß und Barthmeyer (11), Niel, Kluyver und Derx (12) in Kulturen von Streptococcus acid. lactici und Streptococcus cremoris, wo neben Azetoïn auch Diazetyl vorhanden war.

In unseren Untersuchungen haben wir 12 Arten in bezug auf die Azetoïnbildung geprüft, darunter 6 Vertreter der Subtilis-Gruppe, namentlich B. subtilis, B. mesentericus vulgatus, B. corrugatus, B. implexus, B. iridens, B. nigricans; 2 Vertreter der Aerobacter-Gruppe: B. lactis aerogenes und B. viscosus sacchari; 3 Milchsäure bildende Arten: B. bulgaricus, B. caucasicum und Streptococcus cremoris; 1 Hefeart: Saccharomyces Barkeri.

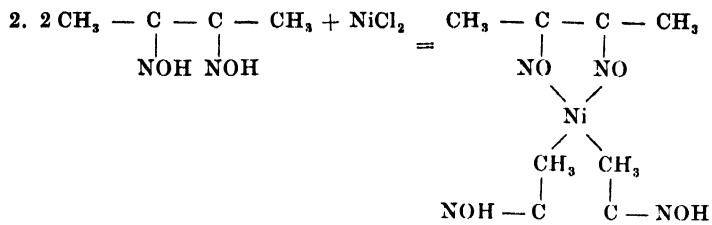
Die Mengen des Azetoïns in Kulturen wurden einerseits mittels der Voges-Proscauer schen Reaktion kolorimetrisch bestimmt, anderseits nach dem Verfahren von Lemoigne-Niel. Die Voges-Proscauer sche Reaktion wird bekanntlich durch eine eosinrote Farbe gekennzeichnet, die langsam, nach einigen Stunden nach dem Zusatz zur zuckerhaltigen Kultur der betreffenden Art von Peptonlösung und konzentrierter NaOH-Lösung zutage tritt: anfangs wird die oberflächliche Schicht der Flüssigkeit rot gefärbt, später dringt die Rotfärbung in tiefere Schichten ein. Die chemische Seite der Reaktion, obgleich sie schon seit 34 Jahren vorgeschlagen worden ist, blieb unklar: auf Grund einiger neuer Angaben und eigener Versuche sind wir geneigt, sie in folgender Weise zu deuten: Das Azetoïn der Kultur wird unter der Wirkung des Luftsauerstoffes lang-

sam zu Diazetyl oxydiert, das letztere wird durch Wirkung der starken Lauge in Chinon überführt und liefert mit den Amidgruppen der Peptonlösung rotgefärbte Chinone. Tatsächlich sprechen schon die oben beschriebenen Erscheinungen zugunsten des oxydativen Vorganges, außerdem haben Werkman und später Glen Lindsey und Meckler (13) festgestellt, daß der Zusatz der Oxydationsmittel wie $FeCl_3$, die Rotfärbung stark fördert. Die Fähigkeit des Diazetyls, in stark alkalischem Milieu Chinone zu bilden, ist seit langem bekannt, ebenso wie die Fähigkeit dieser Körper, mit Amidstoffen, auch mit Phenolen, zahlreiche rotgefärbte Verbindungen zu bilden. Es sei hinzugefügt, daß O'Meara (14) die Peptonlösung bei der Anstellung der Voges-Proscauerschen Reaktion durch Kreatinin oder Dizyanamid mit Erfolg ersetzen konnte.

Um die quantitative Seite der Azetoïnbildung rasch beurteilen zu können, haben wir die Voges-Proscauersche Reaktion mit sinkenden Mengen von Kultur angestellt: als „Titer" galt die niedrigste Menge, wo die Rotfärbung noch wahrzunehmen war. Zu diesem Zweck wurden in eine Reihe von Röhrchen sinkende Mengen von Kultur (1,0, 0,5, 0,2 usw. bis 0,001 g) eingeführt und Wasser bis 2 ccm zugesetzt; nachdem wurde je 0,5 ccm der 5proz. Peptonlösung und 0,5 ccm von 20proz. NaOH hinzugefügt. Wie zahlreiche Bestimmungen nach Lemoigne-Niel zeigten, entsprach der Titer 0,005—0,0025 dem Azetoïngehalt, der bis 0,5% stieg; ist dagegen der Titer schwach, wie 0,5—1,0, so lassen sich durch Gewichtsmethoden die Mengen von Azetoïn bestimmen, die nicht über 0,02—0,04% steigen; überhaupt leistet dieses einfache Verfahren große Dienste bei den Studien über die Azetoïngärung, da es häufig die zeitraubende Methode der quantitativen Bestimmung nach Lemoigne-Niel mit Erfolg ersetzt. Die Empfindlichkeit der Probe in unserer Versuchsanstellung scheint 0,02 mg zu sein: ist z. B. der Titer 0,005, so soll der Azetoïngehalt in 100 ccm der Flüssigkeit ca. 0,4% sein.

Es soll hier bemerkt werden, daß Diazetyl ebenfalls eine positive Reaktion nach Voges-Proscauer ergibt; in seltenen Fällen, wo Diazetyl neben Azetoïn in Kulturen vorhanden ist, ist also dieses Verfahren für die Messung von Azetoïnmengen weniger brauchbar. Bei großer Übung kann jedoch die grobe Bestimmung auch in diesen Fällen ausgeführt werden, da die durch Diazetyl bedingte Rotfärbung sofort nach dem Zusatz der Reagenzien auftritt, und zwar gleichmäßig in den unteren sowohl wie den oberen Schichten; die Rotfärbung dagegen, die nach der Oxydation des Azetoïns eintritt, erscheint sehr langsam und nur in den oberen Schichten, die deswegen intensiver gefärbt sind als die unteren. Die beiden Reaktionen lassen sich also in gewissem Maße unterscheiden. Was nun die genauen quantitativen Bestimmungen anbetrifft, so haben wir die Methode von Lemoigne-Niel angewendet. Die Methode ist darauf gegründet, daß Diazetyl mit Hydroxylamin und Nickelsalzen Dimethylglyoxin von Ni bildet, das als roter nadelartiger Niederschlag ausfällt; das Gewicht dieses Niederschlages mit 0,610 multipliziert, ergibt das Gewicht von Azetoïn, für die Bestimmung von Diazetyl ist der Koeffizient 0,596, für den Butylenglykol 0,624. Der Vorgang kann in folgenden Gleichungen ausgedrückt werden:

1. $$CH_3 \cdot CO \cdot CO \cdot CH_3 + OH \cdot NH_2 = 2\,H_2O + CH_3 - \underset{\underset{NOH}{|}}{C} - \underset{\underset{NOH}{|}}{C} - CH_3$$



Unsere Methodik war die folgende: zu 25 ccm der Kultur wurden 40 ccm von 30% $FeCl_3$-Lösung zugesetzt und das Gemisch wurde 3—4fach mit Wasser verdünnt, die Flüssigkeit gekocht und flüchtige Stoffe in eine Mischung von 2 ccm einer 20proz. Lösung von Hydroxylaminchlorhydrat, 2 ccm einer 10proz. $NiCl_2$-Lösung und 7 ccm einer 20proz. Natriumazetatlösung abdestilliert. Das Azetoïn wird dabei in Diazetyl oxydiert, das quantitativ in Dimethylglyoxin überführt wird. Die Verdünnung mit Wasser beugt der starken Säuerung des Destillates infolge der Hydrolyse der konzentrierten $FeCl_3$-Lösung vor — eine Vorsichtsmaßnahme, die wegen der Löslichkeit des Dimethylglyoxins von Ni im sauren Milieu von Wichtigkeit ist. Der Zusatz von Natriumazetat spielt dieselbe Rolle, indem er das Lösen des Niederschlages hindert. — Es erwies sich bei der Prüfung der obenerwähnten 12 Arten, daß die 7 Tage alten Kulturen der Vertreter der Aerobacter-Gruppe, der Milchsäurebakterien und der Hefen in der Würze nur unerhebliche Mengen von Azetoïn, wie 12, 15, 21 mg in 100 ccm enthielten; demgemäß betrug ihr Titer nach Voges-Proskauer 1,0; in Kulturen von B. mesentericus stieg dieser Wert bis 60 mg, in Kulturen von B. implexus bis 220 mg.

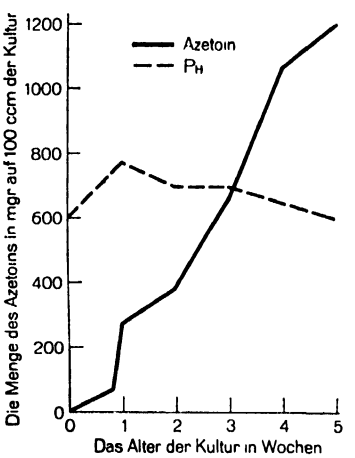


Abb. 1. Intensität der Azetoïn-Bildung und Änderungen des ph in einer Kartoffelkultur des B. implexus.

Diese letztere Art wurde deswegen in unseren Studien vorzugsweise verwendet — in einer großen Anzahl von Versuchen konnten wir den Einfluß über die Azetoïnbildung des Nährsubstrates, des Alters der Kultur, des Luftzutritts usw. nachweisen.

Es erwies sich, daß Polysaccharide dank der verzuckernden Wirkung des B. implexus ebenso für die Azetoïngärung passend sind wie Zucker. Um die Herstellung von Diazetyl billiger zu machen, haben wir Kartoffelkulturen verwendet; namentlich kleine Kartoffelstückchen, die mit der zweifachen Menge von 1proz. K_2HPO_4-Lösung übergossen wurden, da der Zusatz von Phosphaten die Azetoïnbildung stark förderte. Die Bildung von Azetoïn geht intensiver vor sich, wenn die Oberfläche des Implexus-Häutchens ziemlich breit ist. Dieser Umstand scheint eine größere Rolle zu spielen, als der Luftzutritt, so betrug die Azetoïnmenge in 100 ccm der 6 Tage alten Kultur bei 10 qcm der Häutchenoberfläche 16,2 mg, indem sie bei 75 qcm der Oberfläche ceteris paribus bis 136,8 stieg; wurde dagegen der Sauerstoff in einen der 2 Kolben derselben Form geleitet, so verlief die Azetoïnbildung in beiden Kolben ohne merklichen Unterschied —

die betreffenden Werte nach 11 Tagen waren 171,6 und 187,2 mg in 100 ccm.

Die Anhäufung von Azetoïn war während 6 Wochen der Beobachtungszeit immer nachweisbar; in der Abb. 1 sind die Werte des Azetoïns und des ph während dieses Zeitraumes zusammengestellt, da diese Zusammenstellung einen tieferen Einblick in die sich dabei abspielenden Vorgänge ermöglicht. Es handelt sich um eine 37 Tage alte Kartoffelkultur des B. implexus, die deutlich nach Diazetyl roch und tatsächlich 2,8 mg von Diazetyl in 100 ccm enthielt. Die Werte des Azetoïns betrugen nach 7 Tagen 220,2 mg, nach 14 Tagen 381,8, nach 21 Tagen 644,2, nach 16 Tagen 1026,6, nach 17 Tagen 1170,5 mg. Der ursprüngliche ph stieg nach 2 Tagen bis 8,0 und blieb während 10 Tagen unverändert; nach 16 Tagen sank er bis 7,0, nach 30 Tagen bis 6,0. Zurzeit waren in der Kultur keine Stäbchen mehr vorhanden, obgleich die Sporulation schon nach 10 Tagen zur Beobachtung gekommen ist, ließen sich, neben den Sporen, zahlreiche Stäbchen noch nach 15 bis 20 Tagen sehen. Diese Beobachtungen erklären die Schwankungen des ph; solange die Kultur noch lebenstätig ist, bildet sie auf Kosten der Eiweiße alkalische Stoffe, kommt dieser Vorgang zu Ende, so sinkt der ph infolge der NH_3-Evaporation herab. Diese Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration beeinflussen die weiteren Wandlungen des Azetoïns in folgender Weise: das Azetoïn, das sich leicht durch Luftsauerstoff oxydieren läßt, verwandelt sich langsam teilweise in Diazetyl, das letztere aber wird in alkalischem Milieu rasch zerstört; erst in alten Kulturen, deren ph nicht über 6,0 steigt, bleibt das neugebildete Diazetyl erhalten. Tatsächlich konnten wir in einer Versuchsserie, wo bestimmte Mengen von Diazetyl zu den Flüssigkeiten mit verschiedenem ph von 3,0 bis 9,0 zugesetzt wurden, mittels Bestimmung des Titers nach Voges-Proscauer und Geruchsänderungen feststellen, daß das Diazetyl schon bei einem ph über 6,5 rasch zerstört wird, in saurem Milieu dagegen bleibt es wochenlang gut erhalten. Diese Tatsachen erklären sich widersprechende Mitteilungen verschiedener Autoren über die Haltbarkeit des Diazetylgeruches in der Margarine. Handelt es sich, wie in unseren Versuchen, um die sterile oder wenigstens keimarme Margarine, wo ph 6,0 wochenlang unverändert bleibt, so bleibt der Diazetylgeruch erhalten, entwickeln sich dagegen in der Margarine Alkalibildner, wie sporogene Stäbchen, Schimmelpilze u. dgl., so kann das Diazetyl schon nach ein paar Tagen zerstört werden. Es scheint also, daß der Vorgang der Diazetylbildung in Kulturen grundverschieden von der Azetoïnbildung ist — die letztere entsteht infolge der Oxydation von 2—3-Butylenglykol durch Bakterienfermente; die erstere dagegen scheint ein rein chemischer Vorgang zu sein und tritt sekundär beim Luftzutritt und bestimmtem ph zutage. Die Bezeichnung von Voss und Wolff (15) ist darum kaum berechtigt.

Neben dem Azetoïn und evtl. Diazetyl enthalten die Kulturen der Erreger der Azetoïngärung noch ein Glykol, namentlich das 2—3-Butylenglykol $CH_3 \cdot CHOH \cdot CHOH \cdot CH_3$. Die erste Erwähnung über die Bildung von Isobutylenglykol bei der Alkoholgärung wurde 1882 von Henninger (16) gemacht, Claudenet Morin (17), Morin (18), Henninger et Sanson (19) haben diese Beobachtung bestätigt. Harden et Walpole (20) haben das Butylenglykol in Kulturen von B. lactis aerogenes, Thompson, auch Harden et Norris in den B. cloacae-Kulturen nachgewiesen. Lemoigne (20) hat auf Grund seiner Untersuchungen über den Respi-

rationskoeffizienten der Kulturen des B. subtilis, angenommen, daß das Butylenglykol direkt infolge der Spaltung der Glukose in jungen Kulturen entsteht; die Gleichung , die diesen Vorgang widergibt, soll vermutlich die folgende sein: $2\ C_6H_{12}O_6 = 2\ C_4H_{10}O_2 + 4\ CO_2 + 2\ H_2O$. In diesem Falle soll das Schema der Gärung grundverschieden vom Schema von Neuberg sein, wo Azetoïn sich aus Azetaldehyd durch Aldolisation bildet und später zu Butylenglykol reduziert wird. Das Schema von Neuberg scheint nur für Hefen gültig zu sein, mit den Subtilis-Kulturen dagegen schlugen die Versuche von Lafon (22) über die Bildung von Azetoïn auf Kosten der Brenztraubensäure oder von Azetaldehyd fehl. Es gelang aber dem Verf. nicht, die direkte Oxydation des Butylenglykols zu Azetoïn nachzuweisen. — Um diese Frage zu erörtern, haben wir mehrere Versuchsserien angestellt. Da das reine Butylenglykol fehlte, haben wir für diese Versuche unsere Kartoffelkulturen nach der Oxydation mit $FeCl_3$ und Abdestillieren des gebildeten Diazetyls direkt oder nach der Extrahierung des festen Rückstandes dieser azetoïnfreien Flüssigkeit verwendet. Im ersten Falle wurde die braunschwarze Flüssigkeit von $FeCl_3$ durch Zusatz von NaOH-Lösung befreit und filtriert; das klare, fast farblose Filtrat enthielt, wie die Bestimmung nach der Oxydation mit Br zeigte, 2,35 mg von Butylenglykol in 1 ccm; die Voges-Proscauersche Reaktion fiel mit ihm negativ aus. Dieses Filtrat wurde mit 50% Fleischbrühe versetzt und mit verschiedenen Erregern der Azetoïngärung geimpft, darunter B. implexus und B. viscosus sacchari [den wir 1932 als Erreger der Fäule der Zwiebel beschrieben und später für die Herstellung von Diazetyl verwendet hatten; siehe Arbeiten des wissenschaftlichen Nahrungsinstituts (russisch)]. In beiden Kulturen konnten wir schon nach zwei Tagen die Voges-Proscauersche Reaktion nachweisen, deren Titer während 6 Tagen der Beobachtung 5mal stieg; es ist also damit bewiesen — jedenfalls für B. viscosus sacchari, der nicht Azetoïn auf Kosten der in der Flüssigkeit vorhandenen Dextrine zu bilden vermag —, daß Butylenglykol durch die Tätigkeit der genannten Arten in Azetoïn überführt wird. (Das Fehlen vergärbarer Zucker im Nährsubstrat ist in entsprechenden Kulturen des B. viscosus sacchari durch Ausbleiben der Gasbildung gekennzeichnet.)

Noch beweiskräftiger sind die Versuche mit Ätherextrakten. Der feste Rückstand der im Kolben zurückbleibenden azetoïnfreien Flüssigkeit wurde mit wasserfreiem Äther extrahiert — es sei hier erwähnt, daß dieses Verfahren von Harden und Norris zur quantitativen Bestimmung des Butylenglykols in Kulturen vorgeschlagen worden ist. Es wurde aus 50 g der Kultur, nach der Evaporation von Äther, 0,308 g des Stoffes gewonnen, der aber außer dem Butylenglykol noch kleine Mengen von wasserunlöslichen, sich mit Sudan rot färbenden, in Äther und $CHCl_3$ löslichen Stoffen — scheinbar Fettsäuren — enthielt. (Die Bildung von Fettsäuren in stärkehaltigen Kulturen des B. subtilis wurde schon vor Jahren von Van de Velde erwähnt.) Die wässerige Lösung des auf diese Weise gewonnenen Butylenglykols wurde in der Menge von 10% zum Peptonwasser hinzugesetzt; schon nach 2 Tagen wurde mittels der Reaktion von Voges-Proscauer nachgewiesen, daß das Butylenglykol glatt zu Azetoïn oxydiert wurde. Dieser Vorgang in dieser Versuchsanstellung wurde von der starken Aeration günstig beeinflußt, wie direkte Bestimmungen des Titers nach Voges-Proscauer in 2 Kolben ohne und mit Zuleitung der Luft zeigten. Es sei hier

an die Patente von Verhave (23) erinnert, der diese Wirkung der Aeration beim Oxydieren des Butylenglykols in den Vordergrund zieht. Es soll aber hier bemerkt sein, daß bei der Aeration unserer Kartoffelkulturen in toto die Bildung des Azetoïns auf Kosten des Butylenglykols kaum gefördert wurde, wahrscheinlich wegen des Vorhandenseins verschiedener Stoffe, die mehr oxydierbar sind, als das Butylenglykol selbst. Diese Beobachtungen, ebenso wie die obenerwähnte Zunahme der Azetoïnbildung in älteren Kulturen ließen uns annehmen, daß die Oxydation des Butylenglykols intensiver vor sich geht, als das Wachstum des Häutchens und der Sauerstoffverbrauch deswegen herabgesetzt wird. Direkte Versuche haben diese Annahme völlig bestätigt. Das Häutchen des B. implexus aus einer 2 Tage alten Bouillonkultur wurde 3mal mit steriler Kochsalzlösung gewaschen und auf eine Butylenglykol-Lösung übertragen — schon am folgenden Tage trat die Azetoïnbildung ein und dabei, wie der Titer nach Voges-Proscauer, der bis 0,01 betrug, zeigte, war sie 4mal intensiver als in der wachsenden Kultur, die als Kontrolle diente.

Wir glauben auf Grund dieser Beobachtungen zum Schluß berechtigt zu sein, daß in den zucker- oder stärkehaltigen Kulturen der Subtilis-Gruppe die Spaltung der Zucker eintritt unter Bildung des Butylenglykols, das sich unter der Wirkung des Luftsauerstoffs und üblicher Oxydationsmittel kaum oxydieren läßt, unter der Wirkung der genannten Bakteriengruppe dagegen rasch zu Azetoïn oxydiert wird.

Das Butylenglykol, das sich in Kulturen bildet, kann ebenso wie Azetoïn für die Gewinnung des Diazetyls benutzt werden (die Menge des Azetoïns stieg, wie gesagt, in unseren Kulturen bis 12 g für 1 kg, die Menge des Butylenglykols bis 4).

Es folgt aus dem Gesagten, daß ältere Kulturen, in denen die Oxydation des Butylenglykols unter der Wirkung des bakteriellen Ferments („Glykolase") schon vorgeschritten ist, für die Gewinnung des Diazetyls zuverlässiger sind als junge. Um den noch nicht oxydierten Butylenglykol auszunutzen, sollen starke chemische Oxydationsmittel angewendet werden, wie Brom. Da das letztere zu teuer ist, haben wir eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Oxydation des Butylenglykols mit Chlorkalk zu erzielen. Es erwies sich, daß bei der genauen Beobachtung bestimmter Bedingungen in bezug auf ph, die Menge des freien Cl usw., die Aufgabe lösbar ist. Um die zuverlässige Methodik auszuarbeiten, haben wir in einer Versuchsserie die [H·] variiert; es erwies sich, daß die Oxydation am besten vor sich geht, wenn der ph ca. 7 beträgt. Was nun die erforderliche Menge von Chlorkalk anbetrifft, so ist dessen Dosierung von großer Wichtigkeit, da bei zu kleinen Mengen das Butylenglykol unverändert bleibt, wie nachfolgende Bestimmungen mittels Oxydation mit Br zeigen; bei zu großen Mengen verschwindet es rasch aus der Lösung (wahrscheinlich durch Verwandlung in Azetoïn, darauf in Diazetyl, der in alkalischem Medium in Chinon übergeführt wird).

Um diese Frage zu erörtern, haben wir in einer Versuchsreihe steigende Mengen von Chlorkalk gleichen Portionen des obenerwähnten farblosen butylenglykolhaltigen Filtrates zugesetzt und nach bestimmten Zeiträumen den ph, die Menge des gebundenen Cl, den Titer nach Voges-Proscauer usw. bestimmt. Es erwies sich, daß die Oxydation des Butylenglykols zu Diazetyl am besten vor sich geht, wenn die Menge des freien Chlors 15—25mal höher ist als die Menge des vorhandenen Butylenglykols (die in einer kleinen Portion mittels Br-Verfahren bestimmt werden soll).

Um die Dosierung genauer zu machen, soll das $FeCl_3$ aus der azetoïnfreien Flüssigkeit vorher beseitigt werden, sonst bildet sich beim Zusatz des Chlorkalkes ein großer flockiger Niederschlag, der große Mengen von Cl adsorbiert.

Das gebildete Azetoïn erleidet stundenlang keine Änderung (da das freie Cl schon in den ersten Minuten gebunden wird) und kann in üblicher Weise durch Oxydation mit $FeCl_3$ in Diazetyl übergeführt werden. Aus 1 kg Kartoffel lassen sich auf diese Weise die Mengen von Diazetyl gewinnen, die für die Aromatisierung von 2000—3000 kg Margarine ausreichen.

Zusammenfassung.

1. Die Azetoïngärung kann von mehreren Bakterienarten bewirkt werden, insbesondere von Vertretern der Subtilis-Gruppe, der Aerobacter-Gruppe und von Milchsäurebildnern; die Subtilis-Gruppe vermag Azetoïn nicht nur aus Glukose, sondern aus verschiedenen Zuckern, Polysacchariden, Glyzerin u. a. zu bilden.

2. In Kulturen der Erreger der Azetoïngärung lassen sich, außer dem Azetoïn, auch 2—3-Butylenglykol und zuweilen auch Diazetyl nachweisen. Das Butylenglykol, das sich bei der Einwirkung chemischer Oxydationsmittel als sehr widerstandsfähig erweist und sich erst durch Br oder Cl oxydieren läßt, wird durch Fermente der Subtilis-Gruppe leicht in Azetoïn übergeführt; das letztere kann unter bestimmten Verhältnissen in luftreichen Kulturen durch den Sauerstoff zu Diazetyl oxydiert werden.

3. Die alten Kartoffelkulturen der Vertreter der Subtilis-Gruppe ermöglichen die Darstellung von nicht unerheblichen Mengen von Diazetyl mittels der chemischen Oxydation des darin gebildeten Azetoïns und auch des Butylenglykols.

Literaturverzeichnis.

1. Péré, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1896. Vol. 10. p. 417. — 2. Grimbert, Compt. Rend. Acad. Sc. T. 32. 1901. p. 706. — 3. Desmots, Compt. Rend. Acad. Sc. T. 138. 1904. p. 581. — 4. Harden et Norris, Proceed. Royal Soc. London. Vol. 84. 1912. p. 492. — 5. Kluyver, Donker und Visser t' Hoft, Bioch. Ztschr. Bd. 61. 1925. Nr. 361. — 6. Neuberg und Reinfurth, Bioch. Ztschr. Bd. 143. 1923. S. 553. — 7. Neuberg und Gorr, Ergebn. d. Physiol. Bd. 24. 1925. S. 191. — 8. Hirsch, Bioch. Ztschr. Bd. 131. 1922. S. 173. — 9. Elion, Bioch. Ztschr. Bd. 169. 1926. S. 471. — 10. Elion, Bioch. Ztschr. Bd. 171. 1926. Nr. 40. — 11. Schmalfuß und Barthmeyer, Chem. Ber. Bd. 60. 1927. S. 1035. — 12. Van Niel, Kluyver und Derx, Bioch. Ztschr. Bd. 210. 1921. Heft 1—3. — 13. Glen, A., Lindsey und Meckler, Journ. of Bacteriol. Vol. 23. 1932. No. 2. — 14. O'M.eara, Journ. of Pathol. a. Bacteriol. Vol. 34. 1931. p. 401. — 15. Wolff, Das Bacterium diacetylicum (Voss). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 413.) — 16. Henninger, Compt. Rend. Acad. Sc. T. 95. 1882. p. 94. — 17. Clauden et Morin, Compt. Rend. Acad. Sc. T. 104. 1887. p. 1109. — 18. Morin, Compt. Rend. Acad. Sc. T. 105. 1887. p. 1019. — 19. Henninger et Sanson, Compt. Rend. Acad. Sc. T. 106. 1887. p. 208. — 20. Harden et Walpole, Proceed. Royal Soc. T. 77. 1906. p. 399. — 21. Lemoigne, Ann. Inst. Pasteur. T. 27. 1913. p. 856. — 22. Lafon, Bull. Soc. Chimie Biologique. T. 14. Nr. 2. — 23. Verhave, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1930.

Nachdruck verboten

Über die organische Ernährung der Ankistrodesmus falcatus (Corda) Ralfs.

[Aus dem Biologischen Laboratorium des Instituts für Wasserversorgung der U. d. S. S. R. Moskau.]

Von **B. Aleeff.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

Auf Ersuchen von Prof. Dr. J. J. Nikitinsky stellte ich über die organische Ernährung der Alge Ankistrodesmus falcatus (Corda) Ralfs eine Reihe Beobachtungen an, über deren Ergebnisse weiter berichtet werden soll.

Dieser außerordentlich verbreitete und fast überall anzutreffende Organismus findet sich in natürlichen Wasserbehältern gewöhnlich in nur sehr geringen Mengen vor, entwickelt sich aber in Aquarien oft massenhaft.

Die auf dem üblichen Wege der Aussaat auf mineralischem Agar-Agar gewonnene absolute Reinkultur wurde aus einem Aquarium entnommen, das mit Wasser aus dem Moskaufluß oberhalb der Stadt angefüllt worden war.

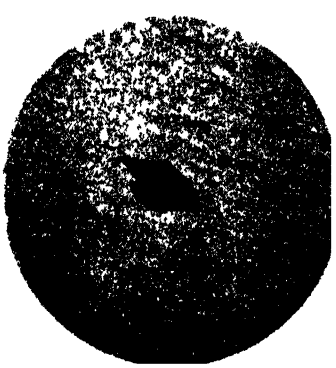


Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. Ankistrodesmus falcatus-Kolonien auf Agar-Agar. Reichert-Cerny. Achr. Z.

Abb. 2. Ankistrodesmus falcatus. Auf mineral Lösungen. Reichert-Cerny. Apochr. 8 mm.

Auf Agar-Agar wächst Ankistrodesmus vortrefflich, indem er zitronenförmige Kolonien mit in gleicher Richtung liegenden Zellen bildet (Abb. 1). Die Reinheit der Kultur wurde durch Aussaat auf verschiedene organische Medien und durch mikroskopische Untersuchung geprüft.

Mit der erhaltenen Reinkultur wurden zuerst Vorversuche unternommen, um die optimale Zusammensetzung des mineralischen Nährmediums ausfindig zu machen und zu untersuchen, ob die Alge überhaupt imstande ist, organische Verbindungen aufzunehmen.

Sowohl bei diesen Versuchen, als auch bei allen folgenden, wurden stets zweimal kristallisierte Kahlbaumsche chemisch-reine Präparate,

dreimal aus einem Glasgefäß destilliertes Wasser und ganz gleichförmige durch Auslaugung vorbereitete Gefäße verwandt.

Gewöhnlich wurden in jedem Versuch 3—4 Parallelkölbchen mit je einer Lösung aufgestellt.

Das Saatmaterial wurde immer zu 0,1—0,2 ccm mit einer sterilisierten Pipette aus den Kulturen mit mineralischer Lösung entnommen.

Versuch 1.

Wachstum auf mineralischer Lösung[1]).

Lösung	D. Konzentration des Mediums in %								Wachstum nach 20 Tagen
	NH_4NO_3	$Ca(NO_3)_2$	KNO_3	$MgSO_4$	KH_2PO_4	K_2HPO_4	KCl	Fe_2Cl_6	
A	0,1	0,01	0	0,04	0,04	0	0,01	Spur.	Sehr schwaches Wachstum
B	0	0,05	0	0,01	0	0,02	0	„	Gutes Wachstum
C	0	0,1	0,02	0,025	0,025	0	0	„	Kein Wachstum

[1]) Die Kulturen wurden während des ganzen Versuchs mit der künstlichen Sonne belichtet.

Versuch 2.

Wachstum in Lösungen verschiedener Reaktion. Stammlösung 0,01% $MgSO_4$; 0,05% $Ca(NO_3)_2$; Spuren Fe_2Cl_6. Dauer des Versuches 20 Tage.

Nr.	ph	Hinzugefügt zur ph-Änderung	Durchschnittliche Anzahl der Zellen in 1 ccm[1])	Anmerkungen
1.	9,0	0,025% K_2HPO_4 + 0,03% KOH	700 000	Durchschnittliche Anzahl der Zellen in 1 ccm unmittelbar nach der Aussaat 200 000
2.	7,3	0,025% K_2HPO_4	1 050 000	
3.	6,9	0,017% K_2HPO_4 + 0,008% KH_2PO_4	1 050 000	
4.	6,6	0,0125% K_2HPO_4 + 0,0125% KH_2PO_4	750 000	
5.	6,3	0,008% K_2HPO_4 + 0,017% KH_2PO_4	500 000	
6.	5,0	0,025% KH_2PO_4	300 000	
7.	4,0	0,025% KH_2PO_4 + 0,05% H_2SP_4	200 000	

[1]) Zellenzählung in Zählkammer v. Thoma-Zeiss.

Versuch 3.

Wachstum der Alge in Lösungen mit organischen Stoffen. Dauer des Versuches 20 Tage. Stammlösung B: $Ca(NO_3)_2$ = 0,05%; $MgSO_4$ = 0,01%; K_2HPO_4 = 0,0125%; KH_2PO_4 = 0,0075%; Fe_2Cl_6 = Spur. 4 Kölbchen am Lichte, 4 im Dunkeln. Volum der Kulturflüssigkeit = 50 ccm.

Nr.	Lösung	Belichtet		Im Dunkeln
		Anzahl d. Zellen in 1 ccm		
1.	Kontrolle	3 600 000	gutes Wachstum	kein Wachstum
2.	0,5% Saccharose . . .	4 900 000	sehr gutes Wachst.	befried. Wachstum
3.	0,5% Mannit . . .	2 050 000	gutes Wachstum	kein Wachstum
4.	0,5% Pepton . . .	—	sehr gutes Wachst.	gutes Wachstum

Kohlenstoff-Ernährung.

Nachdem durch Vorversuche die Möglichkeit der Aufnahme von organischen Verbindungen erwiesen war, wurde der Hauptversuch mit verschiedenen organischen Stoffen unternommen.

Versuch 4.

Eine mineralische Lösung B wurde in 13 Portionen geteilt; eine Portion diente als Kontrolle, den übrigen wurden je 0,5% verschiedener organischer Verbindungen zugesetzt. Diese erhaltenen Lösungen wurden zu je 25 ccm in runde, kleine Kölbchen eingetragen, sterilisiert und mit Ankistrodesmus infiziert.

Sofort nach der Aussaat wurde in einigen Kölbchen die Anzahl der Zellen in 1 ccm gezählt. Das Durchschnittsergebnis ergab die Ausgangszahl. Nach Ablauf von 20 Tagen wurde die Zahl der Zellen von neuem bestimmt. Zu diesem Zweck wurden aus je einem Kölbchen mit gleicher Lösung 10 ccm der sorgfältig vermischten Flüssigkeit entnommen und zu einer Mittelprobe zusammengegossen.

In dieser Mittelprobe wurden alsdann die Zellen je 3—5mal gezählt und daraus die Durchschnittszahl bestimmt. Das Verhältnis zwischen der Ausgangszahl und der Endzahl ergab die Anzahl der Zellen, die am Schluß des Versuches auf eine Ausgangszelle entfielen.

Der Versuch wurde mit parallelen Serien von Kulturen im Dunkeln und bei künstlicher Beleuchtung mit einer wassergekühlten 300 W-Lampe angestellt.

Das Wachstum auf verschiedenen Kohlenstoffquellen.

Nr.	Lösung	Anzahl der auf 1 Ausgangszelle am Schluß des Versuches entfallenden Zellen		Anmerkungen
		im Lichte	im Dunkeln	
1.	Kontrolle	4	1	
2.	Glykose	34	9,5	Im Lichte der Niederschlag d. Alge gelblich-grün
3.	Laevulose	16,5	4	
4.	Saccharose	87	10,5	
5.	Maltose	11	6,5	
6.	Inulin	5,5	3	
7.	Mannit	5	2,5	
8.	Zitronensaures Kalium	2	1	
9.	Weinsaures Kalium	3	1	
10.	Glykokoll	2	1	
11.	Harnstoff	1	1	
12.	Asparagin	1,5	1	
13.	Pepton	49	10	der Niederschlag d. Alge hell-grün

In allen Kulturen dieses Versuches fanden sich neben normalen Individuen der Alge auch viele Zellen von abweichender Form. Am wenigsten kamen solche mißgestalteten Zellen in der Kontrolle und in der Peptonlösung vor (Abb. 2, 3, 4). Aus den obigen Zahlen ist ersichtlich, daß unter den gegebenen Bedingungen der Ankistrodesmus am besten in Anwesenheit von Saccharose, Pepton und Glykose gedeiht; Harnstoff, Asparagin, Glykokoll und zitronensaures Kalium dagegen hemmen das Wachstum. Eine merkliche Bevorzugung der Saccharose gegenüber der Glykose wurde durch einen speziell angestellten Versuch bestätigt.

Versuch 5.

Die Versuchsbedingungen waren dieselben wie bei den vorhergegangenen Versuchen. Eine Vorzählung fand nicht statt.

Die Kontrolle enthielt	3 300 000	in 1 ccm
Glykose enthielt	6 550 000	„ 1 „
Saccharose enthielt	10 000 000	„ 1 „

In der einschlägigen Literatur wird hinsichtlich der Protokokkenalgen: Stichococcus bocillaris, Chlorella protothecoides, Scenedesmus acutus, Sc. caudatus und Chlorothecium saccharophillum die Glykose als eine im Vergleich zur Saccharose bessere Kohlenstoffquelle genannt, was vollständig mit der herrschenden Ansicht bezüglich ihres Nährwertes übereinstimmt. Zwecks einer eingehenden Prüfung dieser Frage wurden zwei Versuche mit verschiedenen (0,01—10%) Konzentrationen der zu prüfenden Zuckerarten durchgeführt. Die Versuchsbedingungen und die Bewertung der Ergebnisse waren die üblichen. Die Dauer des ersten (6.) Versuches betrug 20 Tage, die des zweiten (7.) — 15 Tage.

Abb. 3.

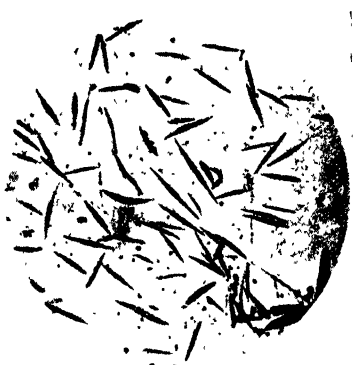


Abb. 4.

Abb. 3. Ankistrodesmus falcatus. Auf 0,5% Glykose. Reichert-Cerny. Apochr. 8 mm.

Abb. 4. Ankistrodesmus falcatus. Auf 0,5% Pepton. Reichert-Cerny. Apochr. 8 mm.

Versuch 6.

Das Wachstum in verschiedenen Konzentrationen von Glykose und Saccharose.

Nr.	Konzentration in %	Anzahl der auf 1 Ausgangszelle am Schluß des Versuches entfallenden Zellen			
		im Lichte		im Dunkeln	
		Glykose	Saccharose	Glykose	Saccharose
1.	0	84	84	1,0	1,0
2.	0,01	272	120	—	3
3.	0,1	520	314	6	2,5
4.	0,5	830	414	5	3
5.	1,0	494	714	1	2
6.	2,0	12	10	1	1
7.	5,0	1	1	1	1
8.	10,0	1	1	1	1

Versuch 7.

Das Wachstum in verschiedenen Konzentrationen von Glykose und Sacharose.

Nr.	Konzentration in %	Anzahl der auf 1 Ausgangszelle am Schluß des Versuches entfallenden Zellen			
		im Lichte		im Dunkeln	
		Glykose	Saccharose	Glykose	Saccharose
1.	0	7	7	1,0	1,0
2.	0,01	12	19	1,5	3
3.	0,1	278	4,0	8	11
4.	0,5	177	266	3	10
5.	1,0	19	223	2	1,5
6.	1,5	1[1])	61	1	1,5
7.	2,0	1	5	1	1,5
8.	2,5	1	1[1])	1	1
9.	5,0	1	1	1	1

[1]) In diesen Serien war 15—20 Tage nach Abschluß des Versuches schwaches Wachstum der Alge bemerkbar.

Abb. 5.

Abb. 6.

Abb. 5. Ankistrodesmus falcatus. Auf 0,5% Saccharose. Reichert-Cerny. Apochr. 8 mm.

Abb. 6. Ankistrodesmus falcatus. Auf 1,5% Saccharose. Reichert-Cerny. Apochr. 8 mm.

Es ist aus den angeführten Angaben zu ersehen, daß das Konzentrationsoptimum für die Saccharose höher liegt als für die Glykose, und daß die beim 4. Versuch für die Glykose ausgewählte Konzentration (0,5%) offenbar etwas höher liegt als die optimale.

	Optimum %	Maximum %
Glykose	0,5—0,1	1,0—2,0
Saccharose	1,0—0,5	2,0—(unter 5)

Bei mikroskopischer Betrachtung der Kulturen gewahrt man, daß zwischen den Algenzellen, die sich in solchen Glykose- und Saccharose-

konzentrationen entwickeln, die der optimalen nahe liegen, die anormalen Formen immer mehr überhand nehmen (Abb. 5, 6).

Analoge Versuche wurden, unter denselben Bedingungen, mit Asparagin, Glykokoll und Harnstoff angestellt.

Die Dauer der Versuche betrug für Harnstoff 20 Tage, für Glykokoll und Asparagin 15 Tage.

Die Ergebnisse dieser Versuche finden sich in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Versuche 8, 9 u. 10.

Das Wachstum in verschiedenen Konzentrationen von Glykokoll, Asparagin und Harnstoff.

Nr.	Konzentration in %	Anzahl der auf 1 Ausgangszelle am Schluß des Versuches entfallenden Zellen					
		Glykokoll		Asparagin		Harnstoff	
		Belichtet	Im Dunkeln	Belichtet	Im Dunkeln	Belichtet	Im Dunkeln
1.	0	13	1	14	1	27	1
2.	0,005	—			—	25	1
3.	0,01	30,5	2	16,5	1	28,5	1
4.	0,05	—	—	—	—	23	1
5.	0,1	21,5	9	12	1	23,5	1
6.	0,25	15	4	7	1	1	1
7.	0,5	5	1	5	nicht gezählt	1	nicht gezählt
8.	0,75	1	1	1,5	„	—	„
9.	1,0	1	nicht gezählt	1	„	1	„
10.	2,0	nicht gezählt	„	1	„	—	—

Man ersieht aus den obigen Zahlen, daß Asparagin und Harnstoff gar nicht aufgenommen werden, während Glykokoll bei einer Konzentration unter 0,25% ganz gut assimiliert wird; allein die äußerste Grenze dieser Konzentration liegt sehr tief, ungefähr bei 0,5%.

Ich möchte hier besonders hervorheben, daß die Frage über die Eignung verschiedener organischer Verbindungen mittels Versuchen, welche nur mit einer einzigen Konzentration dieser Verbindungen angestellt sind, nicht zu lösen ist. Für die exakte Beantwortung dieser Frage ist es unvermeidlich, für jede Verbindung eine ganze Reihe von Konzentrationen anzuwenden. Wenn eine Verbindung, z. B. bei der Konzentration 0,5%, ein negatives Resultat gibt, d. h. noch nicht daß dieselbe Verbindung bei niederen (resp. höheren) Konzentrationen für die Ernährung der Alge auch untauglich wird.

Stickstoffreiche Ernährung.

Zur Prüfung der Stickstoffnahrung der Alge wurden 3 Versuche mit verschiedenen Stickstoffquellen angestellt. Beim ersten Versuch wurde die rein mineralische Stammlösung angewendet, beim zweiten und dritten wurde dieser Lösung als Kohlenstoffquelle 0,1% Glykose zugesetzt.

Versuch 11.

Die Stammlösung B_2 (die Lösung B, aber ohne $Ca(NO_3)_2$) wurde in 13 Portionen geteilt, von denen eine Portion als Kontrolle diente, während

den andern verschiedene stickstoffhaltige Verbindungen zugefügt wurden. An organischen Verbindungen wurde je 0,1%, an mineralischen je 0,5% beigegeben.

Die Dauer des Versuches 15 Tage.

Das Wachstum bei verschiedenen Stickstoffquellen.

Nr.	Lösung	Anzahl d. auf 1 Ausgangszelle a. Schluß des Versuches entfallenden Zellen	Bemerkungen
1.	Kontrolle	5	Am Schlusse d. Versuches
2.	$(NH_4)_2C_4O_6H_4$	9	wurde d. Flüssigkeit gelb
3.	$(NH_4)_2C_4O_4H_2$	10	
4.	$(NH_4)_2SO_4$	4	,,
5.	$(NH_4)_2HPO_4$	12,5	
6.	NH_4NO_3	5	,,
7.	$Ca(NO_3)_2$	14,5	
8.	KNO_3	17	
9.	$NaNO_2$	1	Alle Zellen mißgestaltet
10.	Harnstoff	1	und farblos
11.	Asparagin	3,5	Die Flüssigkeit gelb; viele
12.	Glykokoll	20	Zellen mit i. körn. Inh.
13.	Pepton	24	Die Flussigkeit gelb

Die Versuche wurden nur bei künstlicher Beleuchtung angestellt.

Versuch 12.

Der Stammlösung derselben Zusammensetzung wurde 0,1% Glykose beigegeben. Es wurden je 4 Kölbchen dem Licht ausgesetzt und ebensoviele im Dunkeln aufgestellt.

Das Wachstum bei verschiedenen Stickstoffquellen in Anwesenheit von Glykose.

Nr.	Lösung	Anzahl der auf 1 Ausgangszelle am Schluß des Versuches entfallenden Zellen		Bemerkungen
		im Licht	im Dunkeln	
1.	Kontrolle	32	9	Die Flüssigkeit grunlich-
2.	$(NH_4)_2C_4O_4H_2$ . . .	141	23	gelb
3.	$(NH_4)_2SO_4$	13	19	Am Schluß d. Versuches
4.	NH_4NO_3	9	13	wurde d. Flüssigkeit gelb.
5.	$Ca(NO_3)_2$	383	16	
6.	KNO_3	466	16	
7.	$NaNO_3$	366	15	
8.	$NaNO_2$	1	1	
9.	Harnstoff.	Die Ernte sehr unregelmäßig. Im Lichte war dieselbe in 2 Kolben gut; in den zwei anderen war kein Wachstum zu bemerken		
10.	Asparagin	14	6	
11.	Glykokoll.	433	38	
12.	Pepton	413	40	Die Flüssigkeit wurde gelb

Aus der obigen Tabelle ist zu ersehen, daß der Ankistrodesmus am besten in Lösungen mit Nitraten, Pepton und Glykokoll gedeiht. Sehr interessant ist das Verhalten des Ankistrodesmus zu Ammoniaksalzen. Während die Alge mit Salzen mineralischer Säuren sehr schlecht wächst, geben Salze organischer Säuren eine gute Ernte. Man darf dem-

nach annehmen, besonders in Anbetracht des Umstandes, daß das schwach dissoziierte phosphorsaure Ammonium eine gute Stickstoffquelle darstellt, — daß diese Erscheinung mit dem Grade der Dissoziation der Säuren zusammenhängt, deren Ammoniaksalze dem Ankistrodesmus als Stickstoffquelle gegeben wurden.

Zur Probe wurde der 13. Versuch mit verschiedenen Ammoniumsalzen angestellt. Bei diesem Versuche wurde auch der Einfluß des Harnstoffs, der beim 12. Versuch ein unklares Bild bot, nochmals der Beobachtung unterzogen.

Das Wachstum auf Ammoniumsalzen.

Nr.	Ammoniumsalze	Anzahl der auf 1 Ausgangszelle am Schluß d. Versuches entfallend. Zellen	
		im Licht	im Dunkeln
1.	Zitronensaures	50	2,5
2.	Bernsteinsaures	134	60
3.	Weinsaures	52	22,5
4.	Phosphorsaures	108	40
5.	Salzsaures	17	19
6.	Schwefelsaures	15	20
7.	Kontrolle	25	4,5
8.	Harnstoff	Die Ernte sehr verschieden. Dieselbe Erscheinung wie beim vorhergegangenen Versuche	

Der letzte Versuch bestätigte somit die frühere Beobachtung bezüglich des Einflusses der mineralischen und organischen Ammoniumsalze. Die Frage der Assimilierbarkeit des Stickstoffes aus dem Harnstoff bleibt einstweilen offen, da auch im letzten Falle die Ernte in den einzelnen Kölbchen außerordentlich ungleich ausgefallen war.

Nikitinsky verweist in seiner Arbeit über die Physiologie des Stigeoclonium tenue auf die Kohärenz zwischen der Assimilierbarkeit der Stickstoffquellen und dem Absterben des Stigeoclonium, das sich durch Gelbwerden kennzeichnet. Artari, der dieses Gelbwerden gleichfalls erwähnt, führt diese Erscheinung auf den Übergang der Alge in einen Ruhezustand unter teilweisem Absterben zurück. Bei den Versuchen mit dem Ankistrodesmus zeigte sich gleichfalls ein Gelbwerden des Niederschlages der Alge in Lösungen mit mangelhaften Stickstoffquellen oder ganz ohne solche (s. Anmerkungen zu den Tabellen). Zu der Zahl von Verbindungen, die solche gelbe Kulturen ergeben, gehört auch das Pepton, auf dem gute Ernten gewonnen werden.

Diese Diskrepanz zwischen dem Ausmaß der Ernte und ihrer Färbung steht vermutlich damit im Zusammenhang, daß Pepton als Kohlenstoffquelle gut assimiliert, als Stickstoffquelle schwer assimiliert wird.

Vergleicht man also die verschiedenen Stickstoffverbindungen miteinander, so erweisen sich als beste Stickstoffquellen für den Ankistrodesmus die Nitrate und Glykokoll; mit anderen Worten der Ankistrodesmus falcatus wird nach der Klassifizierung von Beijerinck den nicht ganz klar ausgesprochenen Nitratalgen zuzuzählen sein.

Die Frage der Ernährung der Algen durch organische Stoffe wurde von der Wissenschaft bereits seit langem aufgeworfen und im großen und ganzen in positivem Sinne beantwortet.

Indessen die Mannigfaltigkeit der Ansprüche der verschiedenen Algen bezüglich der Formen und Konzentrationen, der betreffenden Stickstoff- resp. Kohlenstoffquellen, ist so groß, daß es schwer fällt, daraus irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Da ich mich hier nicht mit einer systematischen Übersicht der betreffenden Literatur befassen kann, um so mehr als es genügend Zusammenstellungen bezüglich dieser Frage gibt, so will ich nur bemerken, daß die Zahl der experimentellen Arbeiten über die organische Ernährung der Algen mit Reinkulturen, leider, sehr langsam zunimmt.

Der Ankistrodesmus falcatus ist gleich anderen erforschten Protokokkenalgen befähigt, organische Nahrung aufzunehmen. Hinsichtlich der Form der organischen Verbindungen ist der Ankistrodesmus nicht sehr wählerisch; so z. B. vermag er, neben verschiedenem Zucker, Kohlenstoff auch aus Pepton und Glykokoll zu assimilieren.

Anspruchsvoller erweist er sich offensichtlich in bezug auf den osmotischen Druck, der durch die verschiedenen Konzentrationen der Nährstoffe in der Lösung hervorgerufen wird.

Was die Grenzwerte der Glykosekonzentrationen betrifft, bei denen der Ankistrodesmus zu wachsen aufhört, so steht dieser Organismus tiefer als die übrigen erforschten Algen. Die Grenzkonzentration der Glykose beträgt für den Ankistrodesmus ungefähr 2%. Dieselbe beläuft sich für Chlorothecium saccharophillum (nach Krüger) auf 30%; für Chlorella und Stichococcus (nach Artari) auf 22–25%; für Scenedesmus caudatus (nach Artari) auf 10%; für Stigeoclonium tenue (nach Nikitinsky) auf 12%; für Scenedesmus acutus (nach Beijerinck) auf 5%. In morphologischer Hinsicht üben die aufgelösten organischen Stoffe auf Ankistrodesmus auch einen gewissen Einfluß. In den Kulturen mit organischen Stoffen finden sich sehr viele anormale Formen, die mit den in der Literatur als Varietäten des Ankistrodesmus falcatus bezeichneten Formen übereinstimmen. Das gleiche ließ sich auch bei Versuchen mit stickstoffhaltiger Nahrung beobachten.

Allein eine Gesetzmäßigkeit war für das Auftreten dieser Varietäten nicht festzustellen.

Zum Schluß möchte ich meinem Lehrer Prof. Dr. J. J. Nikitinsky für Unterstützung durch Wort und Tat meinen Dank aussprechen.

Literatur.

1. Krüger, W., Beitr. z. Kenntn. d. Organism. d. Saftflusses d. Laubbäume. — 2. Krüger, W., Über zwei aus Saftflüssen rein gezüchtete Algen. (Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organ. H. 4. 1894.) — 3. Artari, A., Zur Frage über die Milieuwirkung auf die Algenform und Algenentwicklung. (Russ.) — 4. Artari, A., Der Einfluß der Konz. auf die Entwicklung einiger Algen. (Jahrb. wiss. Bot. Bd. 43. S. 40.) — 5. Nikitinski, J., Stigeoclonium tenue. (Phys. Morph. Ökologie.) (Russ.) — 6. Artari, A., Über die Bildung des Chlorophylls durch grüne Algen. (Russ.) — 7. Beijerinck, Kulturversuche mit Zoochl. Lichengen und and. nied. Algen. (Bot. Ztg. 1890.) — 8. Beijerinck, Bericht uber meine Kulturen nied. Algen auf Nährgelatine. (Zentralbl. f. Bakt. 1893.) — 9. Oltmanns, F., Morphologie und Biologie der Algen. (Bd. 3. 1922.) — 10. Brunnthaler, J., Protococcales. Die Süßwasserflora Deutschlands usw. Herausgegeben von A. Pascher. Heft 5.

Nachdruck verboten.

Die Rolle des Salpeters als des die Gasbildung hemmenden Faktors im Käse.

Von Prof. A. F. Wojtkiewicz-Moskau.

Die Anwendung des Salpeters als Mittel gegen die Aufblähungen des Käses zählt in der Praxis der Käsebereitung bereits viele Jahrzehnte, aber nichtsdestoweniger besitzen wir bis jetzt keine erschöpfende Analyse der dabei vor sich gehenden biochemischen Prozesse, die uns eine einwandfreie Erklärung geben könnte, worin die Wirkung des Salpeters auf die das Aufblähen des Käses hervorrufenden Bakterien, d. h. vor allem auf die Gruppe B. coli—Aërogenes besteht. Weigmann glaubt, sich auf die Angaben Boekhauts und De Vries stützend, daß der Salpeter den durch die Vertreter dieser Bakteriengruppen bewirkten Chemismus der Gärung selbst verändert. Es muß gesagt werden, daß die von den genannten Autoren gegebene Erklärung zu primitiv ist. Sie läuft darauf hinaus, daß die Bakterien der Gruppe Coli-Aërogenes, ihren Sauerstoffbedarf durch Abspaltung vom Salpeter befriedigend, infolgedessen keinen Milchzucker bedürfen und auf diese Weise ihn intakt lassen. Diese Erklärung kann richtiger formuliert werden in dem Sinne, daß der Salpeter als Verbindung, die eine bedeutende Menge Sauerstoff enthält, durch Abspaltung des letzteren eine völligere Ausnutzung des Gärungsmaterials, d. h. des Milchzuckers, durch die gasbildenden Bakterien begünstigt. Nimmt man einen solchen Ausgangspunkt an, so muß man den Schluß ziehen, daß der Milchzucker bei seiner Verbrennung durch den Sauerstoff des Salpeters eine viel größere Energie für den biologischen Prozeß geben wird, als es bei der gewöhnlichen Gärung der Fall ist und folglich muß bei Anwesenheit von Salpeter sein Verbrauch kleiner sein. Da bei der auf Kosten des Milchzuckers durch die gasbildenden Bakterien bewirkten Gärung sich Gase bilden (Kohlensäure und Wasserstoff), so würden wir bei Anwesenheit des Salpeters in diesem Falle eine geringere Gasmenge erhalten. Dabei müßte sich auch die Zusammensetzung der gasförmigen Produkte selbst ändern, da der Sauerstoff des Salpeters in seiner Eigenschaft als Akzeptor des Wasserstoffs ihn zu Wasser oxydieren und infolgedessen das Verhältnis zwischen der Kohlensäure und dem Wasserstoff sich ändern würde.

Es ist klar, daß bei der großen Löslichkeit der Kohlensäure dies sich seinerseits in der Schwächung der Blähungserscheinungen im Käse äußern würde.

Die obenerwähnte theoretische Erklärung kann durchaus einer experimentellen Prüfung unterworfen werden.

Jedoch sind uns solche experimentelle Arbeiten, welche die von einer Reihe von Autoren geäußerten theoretischen Erwägungen bestätigten, unbekannt. Freilich gibt es Arbeiten von Mazé [1]) über B. lactis aërogenes, die Arbeit von M. P. Korssakowa [2]) über B. coli. Aber alle diese Arbeiten wurden auf dem Nährboden mit Glykose und hohem

[1]) P. Mazé, Ann. de l'Institut Pasteur. Bd. 25. 1911. S. 289.

[2]) M. P. Korssakowa, Ber. d. Akad. d. Wissensch. (Leningrad). Bd. 9, I. 1929. S. 100.

Salpetergehalt (0,4%) ausgeführt. Dabei verringerte sich bei Mazé und Korssakowa der Wasserstoffgehalt in den gasförmigen Gärungsprodukten im Vergleich mit den Kontrollversuchen bis auf Null. Durch diese Versuche wird jedoch die Frage des Verlaufs der Gärung und ihrer Produkte auf einem anderen Nährboden und bei einer bedeutend niedrigeren Salpeterdosis durchaus nicht entschieden.

Daher setzten wir uns in der vorliegenden Arbeit das Ziel, derartige Untersuchungen anzustellen.

Für die ersten Orientierungsversuche impften wir Kulturen von Bact. Coli-Aërogenes in Gärungskölbchen (Rauminhalt 20 ccm) mit sterilisiertem Nährboden (Schotte mit 0,5% Pepton und 0,5% Kochsalz), in welchen Salpeter in verschiedener Dosierung eingeführt wurde. Die Kölbchen wurden 5 Tage lang im Thermostat bei 37—40° C gehalten, wobei die Menge des sich abscheidenden Gases periodisch gemessen, Bestimmungen des Säuregrades und Proben auf Nitrate und Nitrite gemacht und die Entwicklungsstufe der Bakterien berücksichtigt wurden; letztere wurde nach der Trübung und in einigen Fällen durch Aussaat auf Fleischpeptonagar bestimmt.

Tabelle 1.

Versuchstemperatur 37° C., Säuregrad des Nährbodens 17° Th.

	KNO_3	Gasentwicklung nach			Bakterien nach	Säuregrad nach		Nitrate nach		Nitrite (NO_2 in mg: 1 l) nach	
	%	1 Tag	2 T.	5 T.	1 T.	1 T.	5 T.	1 T.	5 T.	1 Tag	5 Tagen
					B. coli commune.						
1.	—	4,7	5,8	6,0	IV	36	40	—	—	—	—
2.	0,03	6,5	7,2	7,7	IV	36	40	—	—	+ (56 mg)	—
3.	0,06	0,3	1,5	1,5	III	27	38,5	+	+	+ (188 mg)	+ (28 mg)
4.	0,09	0,3	1,0	1,0	II	23	23,8	+	+	+	+ (92 mg)
5.	0,12	0,2	0,7	0,7	II	20,5	20,5	+	+	+	+ (340 mg)
					B. lactis aerogenes.						
1.	—	3,5	4,2	4,7	IV	32	41	—	—	—	—
2.	0,03	3,1	4,1	4,8	IV	32	41	—	—	+ (54 mg)	—
3.	0,06	1,3	4,3	4,8	II	26	42	—	—	+ (202 mg)	—
4.	0,09	0,2	1,2	1,7	I	23	23	+	+	+	+ (92 mg)
5.	0,12	0,2	0,7	1,1	I	20,5	20,5	+	+	+	+

Aus diesem, sowie aus einer Reihe analoger Versuche erhalten wir die bestimmte Schlußfolgerung, daß der Salpeter in hemmender Weise auf die Entwicklung der Bakteriengruppe Coli-Aërogenes nicht unmittelbar einwirkt, sondern bloß infolge der sich als Resultat des Reduktionsprozesses bildenden salpetrigen Säure, welche, die Entwicklung dieser Bakterien hemmend, eben dadurch auch ihre Fähigkeit zur Gasbildung verringert. Dort, wo der Salpeter in kleiner Dosis eingeführt wird, geht die Reduktion bis zum Ende vor sich und zum Schluß des Versuches wird das Verschwinden der Salpetersäure als auch der salpetrigen Säure beobachtet, dabei ungefähr bei derselben Bakterienzahl wie im Kontrollversuch und bei normaler Säure- und Gasbildung, wobei bloß eine Verlangsamung dieser Prozesse beobachtet wird. Bei größeren Salpeterdosen geht anfangs zwar eine Vermehrung der Bakterien vor sich, jedoch wird gemäß der Ansammlung der salpetrigen Säure eine Hemmung des bakteriellen Prozesses und

eine Verringerung der Säure- und Gasbildung konstatiert. Dabei wird regelmäßig zum Schluß des Versuches eine positive Reaktion auf salpetrige Säure beobachtet. Es ist von Interesse zu bemerken, daß der Streptococcus lactis, der den Salpeter nicht zu Nitriten reduziert, sogar auf recht starke Salpeterdosen gar nicht reagierte.

Die folgende Versuchsserie wurde so angestellt, daß in denselben Nährböden anstatt Salpeter Nitrite als entscheidender Faktor im gegebenen Falle eingeführt wurden. Der Versuch wurde in Gärkölbchen ausgeführt, wobei die Nitrite zwecks Vermeidung ihrer Zerstörung erst nach der Sterilisierung eingeführt wurden. Der Nährboden war derselbe, wie im vorhergehenden Versuch. Die Versuchstemperatur war 40° für B. coli und B. aërogenes und 37° für Strept. lactis. Der Säuregrad des Nährbodens war 17° Th.

Tabelle 2.

	KNO_2	Trübung nach	Bakterienzahlen (in 1000) nach				NO_2 (mg : 1 l) nach			Säuregrad n. Thorner nach	Gasentwicklung nach	
	%	1 Tag	1 T.	2 T.	4 T.	5 T.	1T.	2T.	4T.	4 Tagen	1 T.	2 T.
	Bact. coli (geimpft 1 200 000 pro 1 ccm).											
1.	0,000	IV	900000	209000	900	< 1	0	0	0	38	2,0	2,7
2.	0,005	IV	700000	353000	2000	< 1	0	0	0	38	1,9	2,7
3.	0,01	IV	700000	223000	500	< 1	0	0	0	38	2,2	2,4
4.	0,15	IV	350000	213000	1500	< 1	0	0	0	39	2,0	2,3
5.	0,02	IV	305000	527000	5500	< 1	0	0	0	39	1,5	2,15
6.	0,03	IV	235000	350000	1700	< 1	0	0	0	39	0,2	1,3
7.	0,04	II	980	197000	600000	965000	10	0	0	37	0,0	0,0
8.	0,05	II	700	21000	70000	15000	150	76	0	36	0,0	0,0
9.	0,075	I	—	7000	960	965	285	200	171	20	0,0	0,0
10.	0,1	—	—	4000	950	400	600	438	437	18	0,0	0,0
	Bact. lactis aerogenes (geimpft 5 000 000 pro 1 ccm).											
1.	0,000	IV	3050000	205000	< 100	< 1	0	0	0	44	1,5	3,0
2.	0,005	IV	2315000	206000	< 100	< 1	0	0	0	43	2,8	3,0
3.	0,01	IV	2485000	165000	< 100	< 1	0	0	0	43	3,0	3,5
4.	0,015	IV	2400000	170000	< 100	< 1	0	0	0	43	2,3	3,1
5.	0,02	IV	1750000	660000	< 100	< 1	0	0	0	42	2,2	3,0
6.	0,03	III	1620000	2900000	500	< 1	0	0	0	42	0,6	2,0
7.	0,04	II	387000	480000	10500	< 1	107	0	0	42	0,1	1,6
8.	0,05	—	84000	72000	< 100	< 1	205	171	140	24	0,0	0,0
9.	0,075	—	108000	109000	< 100	< 1	320	315	327	23	0,0	0,0
10.	0,1	—	< 100	< 1	< 1	< 1	650	648	583	17	0,0	0,0
	Strept. lactis (geimpft 1 000 000 pro 1 ccm).											
1.	0,000	IV	816000	20000	2000	20	0	0	0	48	—	—
2.	0,005	IV	370100	70000	1000	30	30	12	0	40	—	—
3.	0,01	IV	570000	30000	1000	< 10	58	37	20	38	—	—
4.	0,015	IV	64000	210000	2000	< 10	75	60	38	32	—	—
5.	0,02	IV	60000	350000	100	1	130	100	69	30	—	—
6.	0,03	IV	42000	260000	1000	1	163	146	100	28	—	—
7.	0,04	III—IV	10000	225000	3000	2	233	200	161	26	—	—
8.	0,05	III—IV	10400	210000	100	3	284	250	206	26	—	—
9.	0,750	III	6700	85000	13000	5	446	417	333	22	—	—
10.	0,1	II	3800	43000	10000	0,2	586	603	461	20,5	—	—

Wie wir sehen, findet bereits bei der Dosis 0,04% KNO_2 eine merkliche Verlangsamung in der Entwicklung der Bakteriengruppe Coli-

Aërogenes statt und obgleich letzten Endes eine völlige Reduktion der Nitrite beobachtet wird, tritt nichtsdestoweniger in beiden Kulturen eine teilweise oder sogar völlige Hemmung der Gasbildung und eine Verringerung der Säurebildung ein. Demnach kann die Konzentration 0,04% KNO_2 als kritisch für beide Arten angesehen werden.

Im analogen Falle, der bei niedrigerer Temperatur angestellt wurde, ließ sich eine Verlangsamung der Entwicklung sowohl für B. coli als auch für B. lactis aërogenes bereits bei der Konzentration 0,01% beobachten; die Konzentration 0,02% erwies sich in diesem Falle als kritisch: im Verlaufe von 6 Tagen Versuchsdauer bei 30° waren beide Kulturen nicht imstande, eine völlige Reduktion der Nitrite zu bewirken.

Tabelle 3.

Versuchstemperatur: 30°, Säuregrad des Nährbodens: 17°, Nährboden: Schotte mit 0,5% Pepton und 0,5% Kochsalz.

	KNO_2	Trübung nach				Bakterienzahl (in 1000) nach				Säuregrad nach	NO_2 mg : 1 l nach
	%	1 Tag	2 T.	4 T.	6 T.	1 T.	2 T.	4 T.	6 T.	6 Tage	6 Tagen
						Bact. coli.					
1.	0,00	IV	IV	IV	IV	225000	415000	10000	200	38	0
2.	0,01	—	I	III	III	200	30000	70000	53000	33	0
3.	0,02	—	Spur.	I	I	< 10	650	16500	20000	23	15
4.	0,04	—	—	—		< 10	< 10	< 10	1300	19	152
5.	0,075	—	—	—	—	< 10	< 10	< 10	< 10	17,5	250
6.	0,1	—	—		—	< 10	< 10	< 10	< 10	17	425
						Bact. lactis aerogenes.					
1.	0,00	IV	IV	IV	IV	450000	550000	1000	< 10	37,5	0
2.	0,01	—	I	III	III	1500	31000	320000	52000	30	0
3.	0,02	—	Spur.	I	I	< 10	200	88000	24500	24	48
4.	0,04	—	—	Spur.	Spur.	< 10	< 10	1000	< 10	19	143
5.	0,075	—	—	—		< 10	< 10	< 10	< 10	18,5	233
6.	0,1	—	—	—	—	< 10	< 10	< 10	< 10	17	385

Demnach kann angenommen werden, daß in dem aus Schotte mit Pepton und Natriumchlorid (Kochsalz) bestehenden Nährboden die Einführung von Nitriten in Dosen von 0,02—0,03% die Entwicklung der Bakteriengruppe Coli-Aërogenes stark hemmt und höhere Dosen antiseptisch wirken, indem sie die Entwicklung völlig unterdrücken.

Bezüglich der milchsauren Bakterien (Streptoc. lactis) beobachten wir folgendes (s. Tab. 2): Kleine Nitritdosen wirken auf Streptoc. lactis stärker als auf B. Coli-Aërogenes und umgekehrt gegen höhere Dosen sind die milchsauren Bakterien weniger empfindlich. Die Erklärung dafür finden wir leicht, wenn wir die Resultate der Nitritbestimmungen in den Versuchen mit den einen und den anderen gegenüberstellen. Bei kleinen Nitritdosen reduzierten die Bakterien der Gruppe Coli-Aërogenes die Nitrite vollständig und können sich demnach des weiteren ungehindert entwickeln, da das Antiseptikum aus dem Nährboden entfernt ist. Im Gegensatz dazu erleiden die milchsauren Bakterien infolge ihrer Unfähigkeit zur Reduktion der Nitrite in diesen Fällen im Verlaufe des ganzen Versuchs die antiseptische Wirkung der letzteren. Bei stärkeren Nitritdosen jedoch, dort, wo die gasbildenden Bakterien infolge ihrer raschen Hemmung keine Fähigkeit zur Reduktion derselben zeigen, sind die letzteren

empfindlicher gegen die Nitrite als der Streptoc. lactis. Die praktische Schlußfolgerung, die wir aus diesen Daten ziehen können, läuft darauf hinaus, daß der Salpeter ein spezifisches Mittel zur Hemmung der Entwicklung der Bakteriengruppe Coli-Aërogenes im Käse darstellt, und daß, wenn wir den Salpeter anwenden, wir zwar, jedoch bloß in geringem Grade, die milchsauren Bakterien im Käse schwächen.

Fassen wir die Versuche über die Reduktion der Nitrate durch die gasbildenden Bakterien zusammen, so sehen wir, daß die erhaltenen Zahlen bedeutende Schwankungen in Abhängigkeit von einer Reihe Faktoren — Stamm, Frische der Kultur, Versuchstemperatur u. dgl. — aufweisen. Bei der Herabsetzung der Versuchstemperatur z. B. erhöht sich die Empfindlichkeit dieser Bakterien gegen die Nitrite, woraus gefolgert werden kann, daß unter den Bedingungen des Lagerns des Käses in den Kellern die Wirkung der Nitrate und Nitrite sich stärker äußern muß als bei der optimalen Temperatur, bei der unsere Versuche ausgeführt wurden.

Aus unseren Versuchen kann weiter geschlossen werden, daß sogar bei sehr großen Salpeterdosen, die in der Praxis niemals zur Anwendung kommen und die übliche Dosis fast um das Zehnfache übersteigen die gasbildenden Bakterien eine Reduktion des Salpeters zu Nitriten, in bedeutenderem Umfange, bewirken können — es sammelt sich bis zu 400 mg NO_2 auf 1 Liter an. Eine weitere Reduktion sowohl der Nitrate als auch der Nitrite findet dann nicht mehr statt. Die Grenze für die völlige Reduktion des Salpeters in unseren Versuchen, d. h. in der Schotte mit Pepton bei der Temperatur von ungefähr 40° bildet seine Konzentration von ungefähr 0,06%. (Die Tatsache, daß für den Salpeter die kritische Konzentration höher liegt, als für die Nitrite, läßt sich unseres Erachtens dadurch erklären, daß im ersteren Falle der Reduktionsprozeß allmählich vor sich geht und ein Teil der Nitrite sogleich nach ihrem Erscheinen einer weiteren Reduktion unterliegt; in den Versuchen mit den Nitriten jedoch, falls wir sofort eine bestimmte Dosis derselben einführen, tritt die Wirkung sofort zutage.

Zur Bestätigung des oben Gesagten führen wir die erhaltenen Daten an.

Tabelle 4.

Versuchstemperatur: 37°. Versuchsdauer: 5 Tage.

KNO_3 (in %)	NO_2 (in mg : 1 l) nach 5 Tagen	
	Coli	Aërogenes
0,03	0,0	0,0
0,06	0,0	0,0
0,09	22	74
0,12	40	90
0,15	472	400
0,22	496	350
0,30	400	420

Wie wir sehen, hält der Salpeter an sich auch bei der stärksten Dosis den bakteriellen Prozeß nicht auf. In allen Fällen sammeln sich die Nitrite bis zur Konzentration von ungefähr 400 mg NO_2 auf 1 Liter an. Die Tatsache, daß die Nitrite, wie es zuweilen bei Anwesenheit des Salpeters der Fall ist, wenn auch bloß teilweise verschwinden, läßt sich durch den rein chemischen Prozeß der Zersetzung der salpetrigen Säure bei hohem Säure-

grad des Nährbodens erklären. Auf diesen Vorgang werden wir weiter unten ausführlicher eingehen.

Da im Käse neben der Wirkung des Salpeters auch noch die Wirkung des Natriumchlorids (Kochsalzes) auf die Bakterien berücksichtigt werden muß, so wurden von uns Versuche angestellt zum Zweck der Aufklärung der Frage, welche Wirkung beide Faktoren in ihrer gegenseitigen Verbindung ausüben. Die Versuche haben gezeigt, daß B. aërogenes eine größere Empfindlichkeit als B. coli aufweist. Der Versuch wurde im Laufe von 2 Tagen bei der Temperatur von 37° ausgeführt. Die Zahlen geben die Gasmenge in Kubikzentimeter an.

Tabelle 5.

NaCl:	0,5%	1,75%	3,0%	5,0%
KNO_3: 0,015% B. Coli	6,0	3,2	2,6	0,6
„ : 0,015% A. Aërogenes	4,2	3,1	3,0	0,0
„ : 0,075% B. Coli.	1,3	1,0	2,0	0,1
„ : 0,075% B. Aerogenes	1,4	0,1	0,1	0,0

Demnach muß im Käse bei normaler Salze Bact. lactis aërogenes empfindlicher gegen die Wirkung der Nitrite und Nitrate sein als Bact. coli.

Zwecks Aufklärung der Wechselbeziehungen zwischen den milchsauren und den gasbildenden Bakterien in einem Nitrite enthaltenden Nährboden, was gerade im Käse der Fall ist, führten wir in die Schotte mit 0,5% Pepton bei verschiedenen Dosen KNO_2 gleichzeitig in gleichen Mengen die Kulturen von B. coli oder B. aërogenes zusammen mit Strept. lactis ein. Aus den weiter unten angeführten Daten ist zu ersehen, daß in solchen gemischten Kulturen die führende Rolle dem milchsauren Streptokokkus gehört und die Einführung der Nitrite begünstigt sein Vorherrschen über die gasbildenden Bakterien, was mit den im Zusammenhang mit den Daten der Tabelle Nr. 2, weiter oben gemachten Schlußfolgerungen übereinstimmt. Der Nährboden des Versuchs war Schotte mit 0,5% Pepton und 0,5% Natriumchlorid (Kochsalz). Die Versuchstemperatur war 34—35° (s. Tabelle 6).

Wie wir sehen, geben sowohl die Zahlen des Säuregrades, als auch die der Nitrite in den gemischten Kulturen die gleichen Größen, wie in den Versuchen mit der reinen Kultur Strept. lactis. Die bakteriologische Untersuchung zeigt, daß ungeachtet der gleichen Menge der eingeführten Kultur der einen wie der anderen Art in Gegenwart der Nitrite eine fast völlige Verdrängung sowohl des B. coli als auch des B. aërogenes durch den milchsauren Steptokokkus stattfindet. Während im Kontrollversuch (ohne Salpeter) das Verhältnis zwischen Strept. lactis und B. coli nach 24 Std. ungefähr 8 : 1, und zwischen Strept. lactis und B. aërogenes gleich 14 : 1 war, haben wir in Anwesenheit der Nitrite in derselben Frist eine fast reine Kultur des Streptokokkus.

Des weiteren wurde ein Versuch angestellt zwecks Aufklärung der Frage, wie auf die Nitrite die milchsauren Stäbchen vom Typus Bact. casei reagieren, die, wie bekannt, die Hauptrolle im Reifen des Emmentaler Käses spielen (s. Tabelle 7).

Tabelle 6.

Nährboden: Schotte mit 0,5% Pepton und 0,5% Kochsalz, Temperatur 34—35°, Säuregrad des Bodens 17°.

Maximale Bakterienzahlen (in 1000).

	KNO_2 %	Coli	Aërogenes	S. lactis	S. lactis u. Coli		S. lactis u. Aerogenes	
1.	0,00	415 000	550 000	550 000	500 000	60 000	500 000	35 000
2.	0,01	70 000	320 000	320 000	Nur Streptokokken			
3.	0,02	16 500	88 000	108 000	,,		,,	
4.	0,04	2	200	27 000	,,		,,	
5.	0,075	—	—	28	,,		,,	
6.	0,1	—	—	—	,,		,,	
				NO_2 mg : 1 l nach 6 Tagen.				
1.	0,00	0	0	0	0		0	
2.	0,01	0	0	4	Spuren		5	
3.	0,02	15	48	35	27		34	
4.	0,04	152	143	103	117		117	
5.	0,075	250	233	240	250		245	
6.	0,1	425	385	417	431		439	
				Säuregrad nach 6 Tagen.				
1.	0,00	38	37,5	49	52		52	
2.	0,01	33	30	40	39		38	
3.	0,02	23	24	31	33		31	
4.	0,04	19	19	26	25		25	
4.	0,075	17,5	18,5	20	20		20	
6.	0,1	17	17	18	18		19	

Tabelle 7.

Nährboden: Schotte ohne Pepton und Natriumchlorid. Versuchstemperatur 40°, für Strept. lactis 30°. Versuchsdauer 4 Tage. Säuregrad des Nährbodens 10°.

	KNO_2 %	Trübung					Säuregrad					No_2 (mg pro 1 l)			
		Coli	Aërog.	B. lact.	Cas. Nr. 1	Cas. Nr. 2	Coli	Aërog.	B. lact.	Cas. Nr. 1	Cas. Nr. 2	Coli	Aërog.	B. lact.	Cas. Nr. 1
1.	0,000	IV	IV	IV	IV	IV	26,5	30,5	45,5	71	66,5	0	0	0	0
2.	0,01	IV	III-IV	IV	IV	IV	23,5	29	26,5	56	32	0	0	6	0
3.	0,02	I	I-II	IV	IV	IV	13	16	22,5	46,5	23,5	58	39	45	6
4.	0,04	—	—	III-IV	IV	III	10,5	11,5	19	32	16,5	152	161	140	75
5.	0,075	—	—	I-II	III-IV	I-II	10,5	11,5	15	19,5	15	367	344	290	240
6.	0,1	—	—	Spur.	II-III	Spur.	10	10	13	17	14	417	427	430	390
7.	0,125	—	—	—	I	Spur.	10	10	10	16,5	14	—	—	—	—
8.	0,15	—	—	—	—	—	10	10	10	15,5	14	—	—	—	—

Aus der Tabelle sehen wir, daß das milchsaure Stäbchen eine noch geringere Empfindlichkeit gegen die Nitrite aufweist als der Streptokokkus und demnach sind die von uns in bezug auf den Strept. lactis gemachten Schlußfolgerungen in noch höherem Grade für die milchsauren Stäbchen Bact. casei anwendbar. Es fällt auch die Verringerung der Nitritmenge als Resultat der Entwickelung des Bact. casei auf. Dieselbe Erscheinung wurde, wenn auch in geringerem Grade, bei Strept.

lactis beobachtet. Da die milchsauren Bakterien nicht die Fähigkeit zur Reduktion besitzen, so liegt die Vermutung nahe, daß hier eine Zersetzung der Nitrite unter der Einwirkung der freien Säure stattfand. Zwecks Prüfung dieser Vermutung wurde folgender Versuch angestellt. Verschiedene Mengen KNO_2 wurden destilliertem Wasser hinzugefügt parallel dem von uns im Versuch angewendeten Nährboden (Schotte mit Pepton und Natriumchlorid). Diese Lösungen wurden der Sterilisation im Autoklav (10 Min. bei 1 Atmosphäre) unterworfen und darauf im Thermostat bei 40° im Laufe von 10 Tagen gehalten. Die Nitritbestimmungen wurden vor und nach der Sterilisation und nach dem Stehen im Thermostat gemacht. Der Säuregrad der Schotte war 13° Th. Außerdem wurden dieselben Bestimmungen in der Schotte gemacht, in welcher der Säuregrad künstlich bis zu 50° Th. durch Hinzufügen von Milchsäure erhöht worden war. Die Ergebnisse der Bestimmung führen wir weiter unten an.

Tabelle 8.

Destilliertes Wasser mit KNO_2	NO_2-Menge (in mg : 1 l)		
	vor der Sterilisation	nach der Sterilisation	nach dem Stehen
0,02%	145	144	144
0,065%	479	466	466
0,2%	1476	1458	1450
Schotte			
0,02%	132	132	113
0,065%	452	452	452
0,2%	1321	1321	1321
Schotte (gesäuerte)			
0,02%	121	0	0
0,065%	412	259	117
0,2%	1250	833	493

Wie wir sehen, bewirkt die Sterilisation bei 122° im destillierten Wasser und in der (nicht angesäuerten) Schotte keine Verminderung des Nitritgehalts. (Die Zahlenschwankungen liegen in den Fehlergrenzen der Bestimmung.) Das Halten im Thermostat bei 40° im Laufe von 6 Tagen äußert sich zwar, aber bloß in geringem Grade im Nitritgehalt in der üblichen Schotte. Im Gegensatz dazu hat in der bis auf 50° Th. angesäuerten Schotte sowohl die Sterilisation als auch das Halten im Thermostat eine starke Herabsetzung des Nitritgehalts zur Folge.

Demnach sind wir berechtigt, die Verminderung der Nitrite in den Versuchen mit den milchsauren Bakterien in vollem Umfange dem chemischen Faktor zuzuschreiben. Allerdings müssen wir auch in den Versuchen mit B. coli und B. aërogenes, in Berücksichtigung dessen, daß auch hier eine Säurebildung stattfand, die Verminderung der Nitrite in einigem, wenn auch geringerem Grade auf Rechnung des chemischen Faktors setzen, aber dennoch sind wir berechtigt, aus der Gegenüberstellung der Nitritmengen in den analogen Versuchen mit Strept. lactis den Schluß zu ziehen, daß bei der Entwicklung der Gruppe Coli-Aërogenes die Verminderung der Nitrate hauptsächlich als Resultat des Reduktionsprozesses stattfindet.

Bezüglich der im Käse vor sich gehenden Prozesse dieser Art haben wir in Berücksichtigung der niedrigen Temperaturen, in denen der Käse in den Kellern gehalten wird, noch in höherem Grade die Berechtigung, die

Reduktion der Nitrite hauptsächlich als Resultat der Bakterienwirkung anzusehen. Es ist hierbei nicht zu vergessen, daß im Käse die aktive Azidität infolge des hohen Eiweißgehaltes nicht die Höhe, wie in der Schotte erreichen kann, in welcher das Verhältnis zwischen dem Milchzucker und dem Eiweiß umgekehrt ist im Vergleich zu dem im Käse, in welchem der ph niemals niedriger als bis auf 5,15—5,5 sinkt.

Des weiteren gingen wir zur Aufklärung der Frage über, welche gasförmigen Produkte bei der Gärung in Gegenwart von Salpeter erhalten werden und ob nicht dabei eine Ausscheidung gasförmigen Stickstoffs stattfindet, was vom Gesichtspunkt der Interessen der Käsebereitung äußerst unerwünscht wäre.

Zwecks Aufklärung dieser Frage wurde von uns eine Versuchsserie angestellt. Die Versuche wurden in eigens dazu hergestellten Gärkölbchen (Einhorn) von ungefähr 35 ccm Rauminhalt mit in den oberen Teil eingeschmolzenen Platinelektroden ausgeführt. In die Kölbchen wurden nach ihrer chemischen Sterilisation die entsprechenden Dosen einer 10 proz. Lösung KNO_3 eingeführt, darauf wurde der sterile Nährboden eingegossen und eine Coli- oder Aërogenes-Kultur eingeimpft. Nach dem Stehen im Thermostat wurde die ausgeschiedene Gasmenge notiert, darauf wurde durch Natronlauge die Kohlensäure absorbiert, eine Berechnung des zurückgebliebenen Gases angestellt und die nötige Luftmenge eingeführt. Das Kölbchen wurde durch einen Gummipfropfen, der mit Draht festgebunden wurde, geschlossen und unter einer Glasglocke wurde durch Stromschluß des Ruhmkorffschen Induktionsapparates eine Explosion ausgeführt. Es ist zu bemerken, daß kein einziges Mal eine Sprengung der Kölbchen stattfand. Mißlungene Versuche gab es infolge mangelhaften Verschlusses (der Pfropfen wurde hinausgeschleudert) und zuweilen gelang es aus unaufgeklärten Ursachen nicht, die Explosion hervorzurufen. Weiter unten führen wir die erhaltenen Daten an (s. Tab. 9).

Während des 3 Tage langen Versuches wurde jeden Tag die Menge des sich bildenden Gases notiert. Im Verlauf des ersten Tages bei noch unbeendeter Denitrifikation für die Nr. 4 und 5 hat sich nicht weniger als 80% des Gases gebildet (im Verhältnis zur Menge, die zum Ende des Versuchs notiert wurde).

Ebenso haben wir die volle Berechtigung zu dem Schluß, daß die Einführung des Salpeters in den Nährboden in unserem Versuch sich in keinem einigermaßen bemerkbaren Grade auf der Zusammensetzung der sich bei der Gärung ausscheidenden Gase äußerte. Für Bact. Aërogenes ist das Verhältnis zwischen der Kohlensäure und dem Wasserstoff im Kontrollversuch fast dasselbe, wie in den Kölbchen mit Salpeter. Für Bact. Coli erhalten wir bei Gegenwart von Salpeter eine gewisse Verminderung in bezug auf die Wasserstoffmenge im Vergleich mit dem Kontrollversuch, aber nicht in allen Fällen: bei 0,01% Salpeter ist das Verhältnis zwischen der Kohlensäure und dem Wasserstoff dasselbe, wie im Kontrollversuch. Demnach äußert sich die Einführung des Salpeters wenig oder sogar gar nicht in der Zusammensetzung der Gärprodukte.

Wie wir sehen, schwankt der nach der Bestimmung der Kohlensäure und des Wasserstoffs verbliebene Rest, der von uns für Stickstoff gehalten wird, in allen Kölbchen, unabhängig von der eingeführten Salpetermenge, darunter auch in den Kontrollversuchen (ohne Salpeter) ungefähr in den gleichen Grenzen und ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf eine gewisse

Ungenauigkeit bei der Bestimmung und den im Nährboden aufgelösten Stickstoff zurückzuführen, der bei der Gärung durch die sich ausscheidenden Gase mit fortgerissen werden mußte. Die in der letzten Kolonne angeführten Zahlen für Stickstoff, der bei der Reduktion des ganzen Salpeters zu Stickstoff sich ausscheiden konnte, zeigen, wie weit diese letzten Zahlen die im Versuch erhaltenen übersteigen. Demnach sind wir berechtigt, den Schluß zu ziehen, daß bei der Reduktion des Salpeters im Käse Ausscheidungen gasförmigen Stickstoffs wenigstens in einer der Bestimmung zugänglichen Menge nicht stattfindet.

Tabelle 9.

	KNO_3 %	Gasgesamtmenge (in ccm)		CO_2		H_2		N_2 (Rest)		N_2 Max. Menge (berechnet)
					B. coli.					
1.	0,00	4,8 5,1	4,95	2,2 2,4	2,3	2,5 2,5	2,5	0,1 0,2	0,15	0
2.	0,01	4,4	4,4	2,0	2,0	2,3	2,3	0,1	0,1	2,5
3.	0,02	6,65 9,05	7,82	3,5 4,6	4,05	2,85 4,05	3,45	0,3 0,4	0,35	5,0
4.	0,03	3,4 6,6	5,0	1,8 3,3	2,55	1,2 2,7	1,95	0,4 0,6	0,5	7,5
5.	0,04	6,6 2,5	4,55	3,7 1,1	2,4	2,7 1,1	1,9	0,2 0,3	0,25	10,0
					B. lactis aerogenes.					
1.	0,00	11,0 11,0	11,0	5,2 6,2	6,0	5,0 4,3	4,65	0,2 0,5	0,35	0
2.	0,01	—		—		—		—		2,5
3.	0,02	9,4 11,8	10,6	5,2 6,8	6,0	4,0 4,4	4,2	0,2 0,6	0,4	5,0
4.	0,03	11,4 11,4	11,4	6,9 7,0	6,95	4,4 3,8	4,1	0,1 0,6	0,35	7,5
5.	0,04	9,9 10,6	10,25	5,6 6,0	5,8	3,8 4,3	4,05	0,5 6,3	0,4	10,0

Die Korrektur auf Atmosphärendruck wurde nicht gemacht, da eine äußerst kleine Ziffer — geringer als in den Grenzen eines Versuchsfehlers — dabei ermittelt wurde.

Des weiteren erhebt sich für uns folgende Frage: Werden die Nitrite bei dem von uns untersuchten Prozeß reduziert, so werden welche Verbindungen als Ergebnis der zum Abschluß gelangten Reduktion erhalten? Theoretisch könnte man annehmen, daß die Reduktion bis zum Ammoniak geht. Diese Frage analytisch auf dem üblichen Nährboden, der Schotte mit oder ohne Pepton zu entscheiden, erwies sich als unmöglich. Daher gebrauchten wir einen synthetischen Nährboden folgender Zusammensetzung: K_2HPO_4 1,0, NaCl 0,5, $CaCl_2$ 0,2, $MgSO_4$ 0,3, $FeSO_4$ 0,1, Milchzucker 20,0, destilliertes Wasser 1000. Jedoch bildet sich auf einem solchen Nährboden mit Einführung von Pepton (0,5%) eine ziemlich bedeutende Menge Ammoniak als Ergebnis des Peptonzerfalls (s. Tab. 10).

Daher schlossen wir im weiteren die Einführung des Peptons aus und gaben Nitrate oder Nitrite als einzige Quelle der Stickstoffnahrung. Der Versuch zeigte, daß auf einem solchen Nährboden sowohl die Bakterienentwicklung, als auch die Säure- und Gasbildung in genügendem Grade vor sich gingen.

Tabelle 10.

Synthetischer Nährboden mit 2% Milchzucker und 0,5% Pepton. Versuchstemperatur 30°, Säuregrad des Nährbodens 5,5°.

	KNO_2 %	Bakterien	Säuregrad	NO_2 (in mg: 1 l)	NH_3 (in mg: 1 l)
1.	0,000	IV	34	—	ungefähr 20—25
2.	0,01	III—IV	19	—	desgleichen
3.	0,02	III	20	—	,,
4.	0,03	II—III	11	58	,,
5.	0,04	I—II	9	70	,,
1.	0,000	IV	34	—	,,
2.	0,01	III—IV	20	—	,,
3.	0,02	III	17	5	,,
4.	0,03	II—III	10	49	,,
5.	0,04	I—II	10	61	,,

Es war von Interesse, auf einem solchen synthetischen Nährboden das biochemische Bild der Reduktion der Nitrite aufzuklären. Die Ergebnisse des Versuchs mit Einführung der Nitrite als Quelle der Stickstoffnahrung werden weiter unten angeführt. Versuchstemperatur 40°, Säuregrad des Nährbodens 4°, Versuchsdauer 4 Tage.

Tabelle 11.

	KNO_2 %	In d. Nährboden eingef. N-Menge in mg : 1 l	Bakterien (Trübungsgrad)	Gas	Säuregrad	NH_3 in mg: 1 l	NO_2 in mg: 1 l
			Bact. Coli.				
1.	0,01	0,0	—	—	4	0,0	0,0
2.	0,01	55	III	2,2	8,4	0,0	0,0
3.	0,02	110	III	1,25	10	0,0	0,0
4.	0,03	165	II—III	2,2	7	10,3	Spur
5.	0,04	220	II	—	7	10,3	16,7
			Bact. lactis aerogenes.				
1.	0,00	0,0	—	—	4	0,0	0,0
2.	0,01	55	I	1,45	9	0,0	0,0
3.	0,02	110	I	1,6	8	6,2	0,o
4.	0,03	165	0—I	—	7	21,3	0,0
5.	0,04	220	0—I	—	7	7,7	17,2

Wie wir sehen, finden wir in den Fällen, in denen die Nitrite in einer so kleinen Dosis eingeführt werden, daß die bakteriellen Prozesse nicht gehemmt werden, wie z. B. bei 0,01% und 0,02% KNO_2 für B. Coli nach Beendigung des Versuchs weder Ammoniak noch Nitrite. Der gesamte Stickstoff ist, so kann man annehmen, im vorliegenden Fall von den Bakterienzellen assimiliert. Aber in den Fällen, wo die Nitrite in größerer Menge vorhanden sind und den Zersetzungsprozeß hemmen, finden wir als Ergebnis der Reduktion der Nitrite Ammoniak, der, wie wir sehen, das Zwischenprodukt im Prozeß ist. Demnach ist die Annahme berechtigt, daß die erste Phase des Prozesses sich in der Reduktion der Nitrite zu Ammoniak, die zweite in der Assimilierung des Ammoniaks durch die Bakterienzellen äußert.

Der ganze Prozeß kann durch folgendes Schema ausgedrückt werden: $KNO_3 \rightarrow KNO_2 \rightarrow NH_3 \rightarrow$ Eiweiß.

Zusammenfassung.

1. Die Wirkung des Salpeters auf die gasbildenden Bakterien (Coli-Aërogenes) besteht in der Reduktion des Salpeters zu Nitriten, welche als Antiseptikum hemmend auf diese Bakterien einwirken; infolgedessen wird im Käse die Blähung gehemmt.

2. Die milchsauren Bakterien reagieren nicht in den Grenzen der in der Praxis angewandten Dosierung auf den zugefügten Salpeter, soweit der letztere nicht zu Nitriten als Ergebnis des bakteriologischen Abbauprozesses reduziert wird.

3. Die milchsauren Bakterien werden durch eine geringere Empfindlichkeit gegen die Nitrite, als die Bakteriengruppe Coli-Aërogenes charakterisiert. Für die letzteren ist die kritische KNO_2-Konzentration ungefähr 0,04% und bisweilen auch niedriger, während sie für die milchsauren Bakterien, besonders für die milchsauren Stäbchen, bedeutend höher ist.

4. Die Anwesenheit des Salpeters, wenigstens in den Grenzen der in der Praxis angewandten Dosierung auf einem Milchzucker enthaltenden Nährboden äußert sich nicht in merklicher Weise im Chemismus des Prozesses selbst. Dafür sprechen sowohl die Zahlen des erhaltenen Säuregrades, als auch die Zusammensetzung und Menge des sich bildenden Gases.

5. Bei der Reduktion des Salpeters durch die Bakteriengruppe Coli-Aërogenes wird gasförmiger Stickstoff nicht oder wenigstens nicht in einer der Messung zugänglichen Menge gebildet. Der Reduktionsprozeß läßt sich durch das Schema: $KNO_3 \rightarrow KNO_2 \rightarrow NH_3 \rightarrow$ Eiweiß ausdrücken, d. h. der Stickstoff der Nitrite wird im Endergebnis durch die Bakterienzelle assimiliert.

6. Im Zusammenhang mit der durchgeführten Untersuchung erscheint es zulässig, in bezug auf die praktische Käsebereitung die Frage des Ersatzes des Salpeters durch Nitrite in geringeren Dosen zwecks Hemmung der Blähung des Käses zu stellen.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Kluyver, A. J., The chemical activities of microorganisms. 109 p. (London Univ. of London Press) 1931. Preis geb. 4 sh 6 d.

Das Buch bildet den Niederschlag dreier an der Londoner Universität gehaltener Vorlesungen. Es bringt in überaus anschaulicher Form einen zusammengedrängten Überblick über die im Stoffwechsel sich auswirkenden chemischen und physiologischen Leistungen der Mikroorganismen und kennzeichnet den Stand der modernen Forschung auf diesem Gebiete. In für den Fachmann wie für den Laien gleich fesselnder Weise wird die enorme, vielseitige Leistungsfähigkeit der Bakterien beschrieben; es wird dabei vornehmlich der Arbeiten von Neuberg und Wieland (alkoholische Hefegärung, Oxydoreduktion) gedacht, deren glänzende Forschungsergebnisse einen bedeutenden Fortschritt der mikrobiologischen Wissenschaft bedingen. Mehr für den interessierten Laien bestimmt sind Hinweise auf die Methodik der wissenschaftlichen Arbeit; es wird insbesondere betont, daß der forschende Mikrobiologe nur zu oft darauf angewiesen ist, aus dem Verlaufe von Teilstadien des Stoffwechselprozesses auf den Gesamtablauf zu schließen. — Ein sehr anregendes Buch, dessen Lektüre bestens empfohlen werden kann. Limbach (Leipzig).

Allgemeines und Methodisches.

Richter, K., Über die Verwendung von Zerstäubungsapparaten zur Desinfektion und Kulturenverteilung. (Molkerei-Zeitung. Jahrg. 46. 1932. S. 1485—1486.)

Es wird eine einfache Druckluft-Zerstäubungsvorrichtung beschrieben, die an der Luftaustrittsseite eines Staubsaugers (Elektrolux-Bakterienfänger, Modell Nr. XII) angebracht werden kann. Gegenüber den gewöhnlichen Handzerstäubern hat die neue Vorrichtung den Vorteil, eine sehr feine Zerstäubung mit einer Reichweite von mehreren Metern zu erzielen (deckt in einer Entfernung von 2—3 m eine Fläche von 1,5 m im Durchmesser). Bei der Zerstäubung von Kulturen steht durch die Einschaltung des Bakterienfilters keimfreie Luft zur Verfügung. Zur Raumdesinfektion hat sich eine 0,5proz. Lösung des 40proz. Formaldehyds bewährt.

H. Mossel (Weihenstephan).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Pietschmann, K., und **Rippel, A.,** Zur Zellkernfrage bei den Bakterien. Untersuchungen mit Hilfe der Feulgenschen Nuclealreaktion. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 422—452.)

Die Kernfrage bei Bakterien ist bisher noch nicht endgültig gelöst; die Verff. suchen weiterzukommen durch Anwendung der Feulgen-Reaktion, die darin besteht, daß mit verdünnter HCl hydrolisiert wird; es wird dabei Thymonucleinsäure frei gemacht, die durch eine Aldehydgruppe mit fuchsinschwefliger Säure durch Rotfärbung nachgewiesen werden kann. Die Reaktion ist für alle Zellkernsubstanz der sonstigen Pflanzen und Tiere positiv, wenn auch nicht absolut charakteristisch, da einige andere Substanzen ebenfalls positive Reaktion geben können.

Hauptversuchsobjekt war Bac. mycoides, daneben wurde eine Anzahl weiterer Bakterien weniger eingehend untersucht. In allen Fällen fiel die Reaktion „diffus" aus, d. h. der Zellinhalt färbte sich gleichmäßig schwach rötlich. Eine Hefe von annähernd gleicher Größe, Sacch. bacillaris, ergab jedoch einen deutlich erkennbaren Kern. Vor der Sporenbildung von mycoides kann an der Stelle der späteren Spore eine intensivere Färbung auftreten, die aber offenbar lediglich durch Dichte-Unterschiede bedingt ist.

In die Spore geht nicht der ganze nuclealpositive Teil der Zelle über; es verbleibt ein geschrumpfter Rest, der der Spore exzentrisch anhaftet und zur Verwechslung mit einer normalen Struktur führen kann.

Die nuclealpositive Substanz ist mit Fett nicht identisch; sie konnte auch durch keine Modifikation der Ernährung beeinflußt werden, während sich Menge und Verteilung des Fettes verändern ließen.

Ein ganz anderes Bild ergaben sog. „Reizformen", durch Lithiumchlorid oder Magnesiumchlorid hervorgerufen. Die nuclealpositive Substanz ist nunmehr entmischt und liegt in der Form von feinem Gerinsel bis zu einzelnen Kugeln in der jetzt farblosen Grundmasse der Zelle. Zell-Isolierungen mit Hilfe des Mikromanipulators zeigten, daß die Zellen in diesem Stadium nicht mehr vermehrungsfähig sind.

Die entmischten Zellen ergeben Bilder, die genau den Kuhnschen „Pettenkoferien" entsprechen; diese Deutung jedoch sowie die Deutung als Zyklusformen wird abgelehnt; es sind anomale „Reizformen".

Ob die nuclealpositive Substanz bei den Bakterien in ihrer Bedeutung genau der Zellkern-Substanz der höheren Organismen entspricht, kann noch nicht entschieden werden. Rippel (Göttingen).

Birch-Hirschfeld, L., Über den Einfluß von Molybdän und Bodenextraktstoffen auf die N-Bindung von Azotobacter chroococcum. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 341—361.)

Nachdem Bortels die äußerst günstige Wirkung von Molybdän auf das Wachstum von Azotobacter gezeigt hatte, teilt Verf.n Stickstoff-Analysen mit, die beweisen, daß Mo tatsächlich als Katalysator der N-Bindung anzusehen ist, wobei allerdings die näheren Zusammenhänge noch unbekannt sind. Sie erhielt in 2proz. Glukose-Nährsalzlösung:

ohne Zusatz . . . . . 4— 6
mit Mo (0,005% Na_2MoO_4) 11—15
oder Bodenextrakt
} mg N je 1 g Glukose gebunden.

Die gleiche Wirkung hatte Bodenextrakt-Asche. Bodenextrakt selbst hatte jedoch noch eine weitere, dem Mo fehlende, Wirkung auf die Geschwindigkeit des Wachstumsablaufes, gemessen an der Atmungsintensität und durch unmittelbare mikroskopische Beobachtung von Mikrokulturen, eine Erscheinung, die auch in Nitratkulturen zu beobachten war. Der in dieser Hinsicht wirksame Faktor ist in der Bodenextrakt-Asche nicht vorhanden, also organischer Natur; er ist in Azeton, Alkohol, Äther unlöslich, wird bei Dialyse durch Pergamentfilter zum größten Teil zurückgehalten.

Im Gegensatz zur N-Bindung wird die Höhe der Nitrat-Assimilation durch Mo und Bodenextrakt nicht beeinflußt. Je 1 g verbrauchten Zucker wurden rund 23 mg Nitrat-N assimiliert.

Es werden noch kurze morphologische Beobachtungen mitgeteilt, die später eingehender dargestellt werden sollen. Rippel (Göttingen).

Pringsheim, E. G., Neues über Purpurbakterien. (Naturwissenschaften. Jahrg. 20. 1932. S. 479—483.)

Verf. referiert ausführlich und kritisch über die Arbeiten von C. B. van Niel bzw. C. B. van Niel und F. M. Muller (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1931, und Rec. Trav. bot. néerl. T. 28. 1931) und geht in ausgedehnter Weise auf die einschlägigen Arbeiten von Winogradsky, Molisch und Buder, auch auf die von Bavendamm, Engelmann u. a. ein. — Im Anschluß an die studierten Arbeiten regt Verf. an, die energetischen Verhältnisse der Umsetzungen genauer zu studieren, vor allem die Rolle des Lichts einer genaueren Prüfung zu unterziehen. Er glaubt, daß bei der Oxydation von S zu H_2SO_4 so viel Energie frei wird, daß auch die Reduktion der Kohlensäure durch S exotherm verläuft, und zwar auch im Dunkeln, so daß hier die Energiequelle für die Nacht gefunden sei, was sich durch die von Gietzen (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 83. 1931) erhaltenen Ergebnisse bestätigt. Möglich ist auch eine katalytische Wirkung des Lichtes bei der obengenannten Oxydation. Limbach (Leipzig).

Kroemer, K., und **Krumbholz, G.,** Untersuchungen über osmophile Sproßpilze. 5. Mitt. Das Verhalten von Sproßpilzen in Nährlösungen mit hohen Neutralsalzkonzentrationen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 384—396.)

Mit einer Reihe von Sproßpilzen, darunter den von den Verff. isolierten, hochkonzentrierte Moste vergärenden „osmophilen" Hefen wird das Verhalten gegenüber Lösungen von NaCl, $NaNO_3$, KCl, KNO_3 nnd Glyzerin geprüft. Einige Stämme von Willia und verschiedene Zygosaccharomyceten erwiesen sich als besonders widerstandsfähig. Sie wuchsen teilweise noch in Lösungen von 5,7 Mol. Glyzerin, 3 Mol. KNO_3, 4 Mol. KCl, 3,5 Mol. $NaNO_3$, 3,5 Mol. NaCl. Im Einzelnen sind jedoch die Verhältnisse sehr verschieden.

Kaliumsalze wirken allgemein weniger schädlich als Natriumsalze, Nitrate (mit einigen Ausnahmen) weniger als Chloride. KNO_3 wird auch von denjenigen, die gegen höhere Konzentrationen der übrigen empfindlicher sind, am besten vertragen. Parallelität zu der Osmophilie Zuckerlösungen gegenüber besteht nicht durchaus: z. B. vertragen Willia-Arten sehr hohe Konzentrationen der geprüften Stoffe, die zucker-osmophilen Sacch. bacillaris und stellatus sind dagegen relativ empfindlich, die nichtosmophilen S. ellipsoideus und elongatus wieder weniger empfindlich. Bezüglich weiterer Einzelheiten muß auf die Zusammenstellung verwiesen werden.

In einigen Fällen fanden sich in konzentrierten Salzlösungen Riesenzellen. Rippel (Göttingen).

Braunstein, A. E., und **Lewitow, M. M.,** Biochemische Veresterung von Arsensäure durch Hefe. (Naturwissenschaften. Jahrg. 20. 1932. S. 471.)

Im Anschluß an die über den untersuchten Gegenstand bereits angestellten Versuche (s. Biochem. Zeitschr. Bd. 240. 1931. S. 68) wurde festge-

stellt, daß im Filtrat oder Ultrafiltrat gewisser Hefe-Gäransätze sich der Übergang von Arsenat, in anorganischer Form zugesetzt, in organische Bindung nachweisen ließ, und zwar bis zu einer Menge von 15% des zugefügten Arsenats. Durch Säurehydrolyse kann das Arsenat wieder in Freiheit gesetzt werden. Der Umformungsvorgang erfolgt nicht, wenn Zucker nicht vorhanden ist; er wird durch Monobromessigsäure gehemmt.

Limbach (Leipzig).

Frey, A., und Poschenrieder, H., Beziehungen zwischen Säurebildung und Myzelgewichtsbeeinflussung bei Aspergillus niger. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 409—421.)

Die Säurebildung von Aspergillus niger ändert sich mit zunehmendem Alter der Impfkultur; die Titrations-Azidität nimmt ab. Es soll dabei eine Umwandlung des Zitronensäure-Bildungsvermögens in Oxal- und Glukonsäure-Bildungsvermögen stattfinden, wie das schon Bernhauer feststellte. Weniger ändert sich die Abhängigkeit des Myzelgewichts von dem Kaligehalt der Nährlösung.

Bei verschiedenen Stämmen besteht kein Zusammenhang zwischen dem Säurebildungsvermögen und der Myzelgewichtsbeeinflussung durch den Kaligehalt des Substrates.

Die gebildeten organischen Säuren beeinflussen die Lösung des Kalis aus dem Boden (bei der Aspergillus-Methode zur Feststellung des Nährstoffbedarfs der Pflanze) nicht oder nur wenig; die Lösung des Kalis ist hauptsächlich der freiwerdenden Mineralsäure (Ammonsulfat als Stickstoffquelle) zuzuschreiben. Rippel (Göttingen).

Dilton Weston, W. A. R., The reaction of disease organisms to certain wave-lengths in the visible and invisible spectrum. II. Reaction of urediniospores to visible light: Wave lengths between 400 and 780 μμ. (Phytopath. Ztschr. Bd. 4. 1932. S. 229—246.)

Uredosporen von Puccinia graminis tritici keimen in rotem, orangefarbenem und gelbem Licht fast gar nicht, in grünem Licht um so weniger, je größer der Anteil an gelbem Licht ist. In weißem Licht keimen die Sporen sehr schlecht, wenn nicht die Intensität wesentlich herabgesetzt wird. Riehm (Berlin-Dahlem).

Reitsma, J., Studien über Armillaria mellea (Vahl) Quél. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 4. 1932. S. 461—522, 11 Abb.)

Verf. untersuchte die Entwicklungsbedingungen der Armillaria mellea in Reinkultur. Bei den verschiedensten C- und N-Quellen lag das Temperaturoptimum bei 25° C, die günstigste H-Ionen-Konzentration bei ph = 5. Eine toxische Wirkung übten Hg-Verbindungen, $CuSO_4$ und $CuCl_2$ besonders auf alkalischen Nährböden aus. — In leichten, sauren Böden wächst der Pilz gut. Zur Bodendesinfektion eignet sich 0,6% Uspulun oder Sublimat oder eine Mischung von 10% $CuSO_4$ + CaO, wenn kleine infizierte Stellen entseucht werden sollen. Junge Kiefern gehen aber schon ein, wenn man den Boden mit 0,2% Sublimat behandelt; Uspulun wirkt erst in 0,8-proz. Lösung schädlich. Riehm (Berlin-Dahlem).

Enzymologie der Mikroorganismen.

Quastel, I. H., The action of dyestuffs on enzymes. II. Fumarase. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 898—913.)

Aus Bact. coli, M. lysodeikticus, roten Blutkörperchen und Hirnsubstanz bereitete Trockenpräparate von Fumarase behielten ihre Wirksamkeit bei 0° mehrere Monate lang bei und ließen sich aus den Pulvern mit Wasser frei von Eiweißstoffen und Phosphaten eluieren. Verff. untersuchten die Wirksamkeit saurer und basischer Farbstoffe auf Fumarase. Beide Reihen wirkten giftig auf das Enzym. Schutzwirkung zeigten Fumarate und Proteine. Letztere verbinden sich mit den Farbstoffen und zwar nimmt denaturiertes Eiweiß mehr davon auf als natives. Mit steigender Enzymmenge sinkt bei gleicher Farbstoffmenge die Hemmung. Bei der Wirkung auf lebende Zellen spielen die Permeabilitätsverhältnisse eine Rolle.

R. Koch (Berlin).

Macfarlane, M. G., Fermentation by yeast preparations. I. The effect of mono-jodoacetate on the fermentation of hexosediphosphate. II. The action of arsenate on the induction period of zymin. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 822—828.)

Die Vergärung von Hexosediphosphat durch ein aus autolysierter, getrockneter Bäckerhefe gewonnenes Hexosephophatase-Präparat in Gegenwart von Co-Enzym und Arsenat wird durch Monojodazetat gehemmt. Die durch Hefesaft bewirkte Zuckerveresterung wird durch Monojodazetat in solchen Konzentrationen gehemmt, die die Glykogenveresterung nur schwach beeinflussen. Die Hefepreßsaftgärung wird in Gegenwart von Monojodazetat durch Arsenat nicht beschleunigt. Die Entstehung von freiem anorganischen Phosphat während der Induktionsperiode einer Zymingärung wird durch Arsenat nicht beschleunigt. Dieses anorganische Phosphat entsteht also nicht durch Vergärung von Hexosediphosphat.

R. Koch (Berlin).

Harden, A., and **Macfarlane, M. G.,** Note on the reactivation of reductase in washed yeast preparations. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 818—821.)

Hefepräparate, welche soweit ausgewaschen wurden, daß sie Hexosediphosphat nicht mehr vergoren, hatten auch das Methylenblau-Reduktionsvermögen verloren. Durch Hinzufügen von Laktat, Succinat oder Methylglyoxal wurde das Methylenblau-Reduktionsvermögen wiederhergestellt. Verff. schließen daraus, daß für die Wirkung der Reduktase in Hefepräparaten ein Co-Enzym wahrscheinlich nicht erforderlich ist.

R. Koch (Berlin).

Warburg, O., und **Christian, W.,** Ein zweites sauerstoffübertragendes Ferment und sein Absorptionsspektrum. (Naturwissenschaften. Jahrg. 20. 1932. S. 688.)

Aus Unterhefe wurde ein weiteres Ferment isoliert, welches als Sauerstoffüberträger fungiert. Kurze Angaben über Farbe, Beständigkeit, Reoxydierbarkeit der O-Übertragungsfähigkeit; Abbildung des Absorptionsspektrums.

Limbach (Leipzig).

Windisch, F., Ein alkoholoxydierendes Enzym in der Hefe. (Naturwissenschaften. Jahrg. 20. 1932. S. 673.)

Verf. fand, daß verschiedene Kulturhefen imstande waren, Alkohol zu oxydieren und weiterhin in die zugehörige Fettsäure überzuführen; dies geschah in der gleichen Weise und in gleicher Menge je Zeiteinheit, wie es durch die Essigbakterien bewirkt wird. Bei reichlicher Belüftung vermögen die Hefen den desmolytisch aus Zucker gebildeten Äthylalkohol zu Essigsäure zu oxydieren. Weiter soll untersucht werden, welcher Zusammenhang zwischen der alkoholoxydierenden Fähigkeit der Hefe und ihrer Atmung besteht. Limbach (Leipzig).

Graßmann, W., Zechmeister, L., Toth, G., und Stadler, R., Zur Spezifität polysaccharidspaltender Enzyme. (Naturwissenschaften. Jahrg. 20. 1932. S. 639.)

Es wurde gefunden, daß Enzymlösungen, aus Schimmelpilzen isoliert, Zellulose, Lichenin, Xylan und Hydratopektin zu spalten vermochten, nicht jedoch Inulin und Mannan. Die Enzyme Xylanase, Zellulase, Inulinase, Mannanase sind scharf voneinander unterscheidbar. Es werden auch Zellobiose und eine Reihe β-Glukoside zerlegt. — Zellulase und Zellobiase lassen sich mittels Aluminium-Metahydroxyds (nach Willstädter u. Mitarb.) aus dem Enzymgemisch isolieren; jene spaltet ausschließlich höhere Verbindungen bis zu Dextrinen mit 8—10 Glukoseresten, diese hydrolisiert vorwiegend Oligosaccharide. Man unterscheidet demnach „(β-Gluko-)Oligosaccharase“ und „(β-Gluko-)Polysaccharase“. Das letztgenannte Enzym läßt sich nicht mit einer bekannten β-Glukosidase identifizieren.

Limbach (Leipzig).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Baumann, J., Zur Frage des Zusammenhanges zwischen Schmutzgehalt und Keimzahl der Milch. (Schweizer. Milchzeitung. Nr. 72. 1932.)

Frischer Kuhkot ist wesentlich keimärmer als natürlich oder künstlich getrockneter Kot. Infolgedessen bedingt eine Verunreinigung der Milch mit frischem Kot, wie sie bei Durchfall vorkommen kann, eine geringere Erhöhung des Keimgehaltes der Milch als an unsauber gehaltenen Tieren ausgetrockneter Kot oder Striegelstaub. Wenn sie in gleicher Menge in die Milch gelangen, kann letztgenannter der Milch das Hundertfache und mehr an Keimen zuführen.

Impfung von Milch mit 4‰ Kuhkot in beiden Formen hatte keine wesentliche Verschiedenheit in der Keimzahl und Gerinnungszeit zur Folge im Vergleich zu unbeimpfter Milch. Keimzählungen in künstlich mit frischem Kuhkot verunreinigter Milch ergaben niedrigere Werte als die Summe der ursprünglich in der Milch vorhandenen und der mit dem Kot zugesetzten Keime betrug. Dies deutet auf das Vorhandensein von wachstumshemmenden bzw. bakteriziden Stoffen in dem Kot hin.

Obwohl die Untersuchungen ergaben, daß die Verunreinigung der Milch durch Kuhkot den Keimgehalt und die Haltbarkeit nicht so ungünstig beeinflussen, wie allgemein angenommen wird, muß aus Reinlichkeits- und hygienischen Gründen mit allen Mitteln auf die Gewinnung reiner Milch hingearbeitet werden.

Die Untersuchungsergebnisse geben einen erneuten Beweis, daß hohe Keimzahlen und damit zusammenhängende verminderte Haltbarkeit der Milch weniger auf unreinliche Melkarbeit als auf den Kontakt der Milch mit ungenügend gereinigten Geräten und mangelhafte Kühlung zurückzuführen sind. H. Mossel (Weihenstephan).

Teichert, K., und **Stocker, W.,** Über den Einfluß farbiger Gläser auf die Beschaffenheit der Milch. (Molkerei-Zeitung. Jahrg. 46. 1932. S. 2093—2095.)

Die in verschieden gefärbten Reagenzgläsern dem direkten und diffusen Sonnenlicht ausgesetzten Milchproben säuerten am schnellsten zumeist im braunen, noch mehr aber im hellbraunen Glase. Am schwächsten erwies sich die Säuerung meistens im blauen Glase. Mit dauerpasteurisierter und hocherhitzter Milch wurden ähnliche Ergebnisse erzielt. Die durch die Einwirkung des Lichtes verursachten Geschmacksveränderungen der Milch traten in den farblosen Gläsern zuerst auf, dann folgte die Milch im blauen Glase. Am geringsten war die Veränderung bei Verwendung braunen Glases. Keimzählungen auf 2 Tage lang bebrüteten Chinablaulaktose - Agar - Petrischalen ergaben bei durchsichtigem blauen Glase die geringsten Säurebildnerwerte. Ähnlich verhielt sich das durchsichtige grüne Glas. Das Verhalten der Nichtsäurebildner war unregelmäßig. H. Mossel (Weihenstephan).

Thurston, L. M., and **Barnhart, J. L.,** Some observations on the effect of temperature of pasteurization on the acid coagulation of skimmilk. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. S. 401—405.)

Die zu den Laboratoriumsversuchen ausgewählten Temperaturen waren 62,5°, 68,3°, 73,9°, 79,4° und 85° C, jedesmal eine halbe Stunde lang. Es zeigte sich, daß die Festigkeit des Säuregerinnsels bei Milchen mit höherer Pasteurisierungstemperatur (über 79°) um die Hälfte geringer ist als bei niedrigerer Temperatur. Dies hat spezielle Bedeutung für die Herstellung von Handelsbuttermilch und Quargkäse. Bei den Milchen mit den höheren Pasteurisierungstemperaturen läßt sich nämlich das Gerinnsel leichter verteilen und feiner verrühren, was ein Vorteil ist für die Buttermilchherstellung mit Säureweckerreinkulturen, jedoch ein Nachteil für die Quargbereitung. Mit steigender Pasteurisierungstemperatur war im Augenblick der Gerinnung die Wasserstoffionenkonzentration gesenkt, ebenso die Menge der vorhandenen titrierbaren Säure. Diese Erscheinung trat besonders deutlich bei den Temperaturen über 68,3° C auf. Was nun die Zeit betrifft, die unter sonst gleichbleibenden Bedingungen bis zur Koagulation benötigt wurde, so zeigte sich wenig Unterschied bei Pasteurisierungstemperaturen bis zu 68,3° C, eine starke Verkürzung jedoch bei 73,9° C ohne wesentliches Zurückgehen bei den noch höheren Temperaturen. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Steck, W., Ein einfaches Verfahren zum Nachweis geringer Galtstreptokokken-Infektionen. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. Jahrg. 42. 1932. S. 397—398.)

Das Verfahren beruht im wesentlichen auf dem Eintragen ganzer aseptisch gewonnener Viertel-Mischmilch in Serumdextrose-Agar in engen Reagenzröhren.

Die Probeentnahme geschieht am besten abends, und zwar wird die Endmilch aus den vier Euterviertelnin ein steriles Reagenzglas entnommen. Nach Durchmischen werden 0,5 ccm in 10 ccm Agar eingetragen (2% Dextrose, dem bei 47° C je 10 ccm 0,5 ccm steriles Pferdeserum zugesetzt worden sind). Die Milch wird durch Schwingen aus dem Handgelenk mit dem Agar vermischt, bis nur noch eine etwa 0,5 ccm fassende Kuppe ungetrübt bleibt. Die Röhrchen werden zum Erstarren gebracht und bei 38° C bebrütet. Bereits nach 12 Std. werden die Röhrchen gemustert. Wo Kolonien sichtbar sind, wird die Agarsäule entnommen zur Weiterverarbeitung. Die Beurteilung geschieht wie folgt:

Kein Wachstum nach 12 Std.: negativ.

Wenig atypische Streptokokken (z. B. trüb wachsend in Laktosebouillon — selbst solche, die auf dem Klimmerschen Bromkresol-Purpursaccharoseserum-Alkalialbuminat-Agar positiv erscheinen): negativ.

Wenig typische Streptokokken (z. B. flockig in Laktosebouillon): positiv.

Viele (mehr als 50 pro ccm) Streptokokken, typisch oder atypisch wachsend: positiv. H. Mossel (Weihenstephan).

Diernhofer, K., Über das Vorkommen von Streptokokken vom „Lactistyp" im lebenden Kuheuter. (Milchwirtschaftl. Forsch., Bd. 13. 1932. S. 263—270.)

In mehreren Euterviertelnzweier Kühe wurden während einer längere Zeit dauernden Beobachtung Streptokokken nachgewiesen, die dem Typus des Str. lactis zugeteilt werden konnten. Bei Infektionsversuchen an 4 Euterviertelndreier Kühe mit drei verschiedenen Str. lactis-Stämmen konnte sich nur ein aus dem Euter gezüchteter Stamm längere Zeit im Euter halten, ohne chronische Mastitis zu erzeugen.

H. Mossel (Weihenstephan).

Klimmer, M., und **Haupt, H.,** Versuche der künstlichen Infektion von Kühen durch Einbringen von Reinkulturen des Streptococcus agalactiae in die Zisterne des Euters. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 431—441.)

Als Versuchstiere wurden altmelkende Kühe verwendet, die nach mindestens eine Woche dauernden Untersuchungen als frei von Agalactiae-Infektion befunden worden waren. Das Infektionsmaterial wurde mittels Melkröhrchen mit abgerundetem, geschlossenem freien Ende und mit zwei kurz darüber gelegenen seitlichen Öffnungen in die Zisterne, d. h. 2—2,5 cm über der Zitzenmündung, eingeführt und bestand aus:

1. 24stünd. Lackmusmilchkultur von Str. agalactiae;
2. 24stünd. Saccharose-Bouillonkultur von Str. agalactiae;
3. Abschwemmung von 24stünd. Serum-Agarkultur (Str. agal.);
4. aus einer 24stünd. Saccharose-Bouillonkultur ausgeschleuderten und durch dreimaliges Waschen mit steriler NaCl-Lösung von anhaftenden Stoffwechselprodukten und Kulturmaterial möglichst vollständig befreiten Galtstreptokokken;
5. fast streptokokkenfreiem Zentrifugat einer 24stünd. Galtstreptokokken-Saccharose-Bouillonkultur.

Verff. kamen zu folgenden Ergebnissen:

Das Einbringen von Kulturen des Galtstreptokokkus in die Milchzisterne

altmelker Kühe führte mit Sicherheit zur Ansiedlung dieser Streptokokken im Euter. Zum Haften der Infektion waren Stoffwechselprodukte der Galtstreptokokken, namentlich auch organische Säuren, nicht erforderlich; auch ohne gleichzeitige Einwirkung von Stoffen, die die Widerstandskraft des Euters herabzusetzen imstande waren, haftete die Infektion. Die am Euter nach dem Einbringen von Galtstreptokokken feststellbare Reaktion des Gewebes war in hohem Maße von der individuellen Empfindlichkeit gegen die Galtstreptokokken abhängig und von den gleichzeitig eingebrachten Stoffwechselprodukten des Str. agalactiae ziemlich unabhängig. Material mit viel Streptokokken und den Stoffwechselprodukten des Str. agalactiae verursachte beim Verbringen in das Euter länger anhaltende Störung der Sekretion als Streptokokken ohne Stoffwechselprodukte oder wenig Streptokokken mit Stoffwechselprodukten. Der Beginn der Ausscheidung von Streptokokken p. inf. war abhängig von der Anzahl der infizierten Streptokokken. Im weiteren Verlauf bestand kein deutlicher Zusammenhang mehr zwischen Dosis, Art des Infektionsmaterials und der Individualität. H. Mossel (Weihenstephan).

Diernhofer, K., Aeskulinbouillon als Hilfsmittel für die Differenzierung von Euter- und Milchstreptokokken bei Massenuntersuchungen. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 368—374.)

Es wird ein Differentialnährboden für Streptokokken beschrieben, der aus Fleischwasser, 1% Pepton, 0,3% NaCl, 0,2% Natr. phosph. und 0,1% Aesculin (Merck) besteht. Bei seiner Verwendung gestaltet sich die kulturelle Untersuchung von Sekretproben folgendermaßen: Aus dem Sediment der zentrifugierten Probe wird auf die Anzüchtungsplatte (Traubenzucker- oder Saccharose-Vollblutagar, oder Saccharose-Alkalialbuminat-Bromkresolpurpuragar nach Klimmer, Haupt und Roots oder der von Seelemann angegebene Agar mit nukleinsaurem Natrium) ausgeimpft. Der erfahrene Untersucher erkennt nach 18—24 Std. ohne weitere Prüfung auf einem großen Teil der Platten gewisse Streptokokkenkolonien mit einer für die Praxis ausreichenden Sicherheit (z. B. die typisch-zügigen Galtkolonien auf Zucker-Vollblut-Agarplatte, die intensiv gelben Galtkolonien auf Saccharose-Bromkresolpurpur-Agar, die „knäuelwickelförmigen" Galtstämme auf dem von Seelemann angegebenen Agar). Aus allen nicht genügend einwandfrei diagnostizierbaren Streptokokkenkulturen wird nun auf Aesculinbouillon und Lackmusmilch abgeimpft. Nach weiteren 24—36 Std. sind meist alle Stämme mit einer für Massenuntersuchung genügenden Eindeutigkeit bestimmt. Es ist nur in sehr seltenen Fällen und für wissenschaftliche Untersuchungen notwendig, außer dieser „kleinen Reihe" noch andere Differentialnährböden zu Hilfe zu nehmen. Die hier angegebene Aesculinbouillon erwies sich als viel brauchbarer als der Original-Aesculin-Nährboden nach Harrison und Vanderleck. H. Mossel (Weihenstephan).

Charlton, D. B., Studies on Lactobacillus thermophilus. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. p. 393. 1932.)

Bei Untersuchung dauerpasteurisierter Milch zeigten die bei 37° C bebrüteten Standardagar-Platten nur wenige der sog. „pin point" Kolonien, während dies bei 50° C sehr reichlich der Fall war; in Milchpulveragar erreichten diese Kolonien sogar eine Größe bis zu 0,8 mm. Die betreffenden

Milchen zeigten unmittelbar nach Pasteurisierung einen eigenartigen Geruch und Geschmack, die Azidität betrug 0,25% (11,1 S. H.). Die aus solchen Kolonien isolierten Organismen stellten sich als Lactobacillus thermophilus heraus. Die allgemeine Charakteristik stimmt mit den Originalangaben der ersten Entdecker, Ayers und Johnson, überein. Das Wachstum der Kolonien ist kümmerlich auf Standardnähragar. Dadurch, daß die Kolonien darauf in unbestimmter fädiger Form in „pin point" Größe erscheinen, sind sie bei Lupenbetrachtung scharf von den linsenförmigen „pin point" Kolonien der hitzeresistenten Streptokokken zu unterscheiden. Ein wesentlich besseres Wachstum wird bei Verwendung von Bacto-Proteose-Pepton anstatt gewöhnlichen Peptons erhalten. Die Bedeutung des Auftretens von L. thermophilus in pasteurisierter Milch besteht darin, daß er ein Indikator ist für nachlässige oder falsche Betriebsführung; denn er tritt mit Vorliebe bei der zumeist verbotenen Wiederpasteurisierung oder bei ungenügender Sterilisierung der Pasteurisierungsapparate auf. Gesundheitliche Schädigungen wurden mit diesem Organismus bei seinem Wachstum in Milch nicht beobachtet.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Bünger, H., Seelemann, M., Werner, A., Wolf, C. H., und Sorge, G., Ist die Gewinnung von Vorzugsmilch bei Verfütterung von frischen Rübenköpfen und -blättern möglich? (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 235—247, 2 Textabb.)

Bezüglich der bakteriologischen Seite kommen Verff. zu dem Schluß, daß sich der allgemeine Keimgehalt und der Coligehalt der Milch trotz Verabreichung größerer Mengen Rübenblattes in den im allgemeinen für Vorzugsmilch verlangten Grenzen hält, wenn nur sauberes Blatt verfüttert wird (evtl. gewaschen), das nicht bereift oder angefroren war (Durchfall). Weiterhin sind die üblichen Vorsichtsmaßregeln beim Melken und in der Stallhaltung zu beachten.

H. Mossel (Weihenstephan).

Mohr, W., und Müller, W., Der Verlauf der Säuerung in süß eingedickter Magermilch. II. Mitt. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 388—393.)

Mit Reinkulturen von Jogurt und Emmentaler (Helveticum), welche im Säuerungsvermögen ziemlich gleichwertig sind, ließen sich die süß eingedickten Magermilchproben mit etwa 30% Trockensubstanz bei einer Temperatur von 40° C bis zu einem Milchsäuregehalt von 4—4,5% innerhalb 8—10 Tagen säuern. Die Konsistenz des Endproduktes war fester als bei den mit Säurewecker gesäuerten Proben, wie sich auch Säurewecker bezüglich Schnelligkeit und Intensität der Säuerung nicht besonders gut eignete.

H. Mossel (Weihenstephan).

Hansen, P. Arne, The public health significance of the growth of thermophilic bacteria in pasteurized milk. (N. Y. State Agr. Exp. Stat. Techn. Bull. Nr. 196. April 1932.)

Es kamen folgende thermophile Bakterien zur Untersuchung: Bac. aerothermophilus Weinzirl, Bac. calidus Blau, Bac. coagulans Hammer, Bac. kaustophilus Prickett, Bac. michaelisii Prickett, Bac. nondiastaticus Bergey, Bac. thermoliquefaciens sowie je ein Stamm von Cameron und Estys Gruppe 80 und 100. Die mit diesen Keimen versetzte und bebrütete Magermilch wurde

dann an Meerschweinchen verfüttert. Die Tiere zeigten während des Versuches und nachher eine ganz normale Gewichtszunahme und auch sonst keinerlei Besonderheiten. Da somit das Vorhandensein irgendeiner toxisch wirkenden Substanz bei diesen Bakterien nicht nachzuweisen war, ist ihr Auftreten in Marktmilch vom gesundheitlichen Standpunkt aus bedeutungslos. Immerhin sind sie aber unerwünscht, da im Handelsverkehr mit Milch nicht bloß Freiheit von Krankheitserregern, sondern allgemein auch eine möglichst geringe Zahl von harmlosen Bakterien verlangt wird.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Prickett, P. S., and **Norman, J. Miller,** Note on use of alkaline water blanks for plating dried milk products. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. p. 391–392.)

Bei der bakteriologischen Verarbeitung von Trockenmilch ist es mitunter sehr schwierig, in dem Agar kleinste Kolonien von den suspendierten feinsten Kaseinteilchen zu unterscheiden. Zur Behebung dieser Schwierigkeit untersuchten Verff. 20 verschiedene Alkalilösungen einschließlich Natriumphosphaten auf ihre Fähigkeit, diese feinsten Eiweißflocken zum Verschwinden zu bringen. Die besten Ergebnisse wurden mit LiOH-Lösungen ($^1/_5$ und $^1/_{10}$ molar) erhalten. Ihre Harmlosigkeit gegenüber den Bakterien wurde durch vergleichende Untersuchungen mit destilliertem Verdünnungswasser und den Lithiumhydroxyd-Lösungen als Verdünnungsmittel festgestellt. Hat die betreffende Trockenmilch einen tiefen ph (4,5), verwendet man m/5 LiOH als Verdünnungsflüssigkeit, andernfalls m/10 LiOH. Heftiges Schütteln der Verdünnungsflaschen ist zu vermeiden, da in diesen Lösungen das Fett eine größere Tendenz zeigt, auszubuttern.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Dahlberg, A. C., and **Marquardt, J. C.,** Sterilization of dairy farm utensils with dry heat. (N. Y. State Agr. Exp. Stat. Bull. Nr. 612. Juni 1932.)

Obgleich sich dieses Verfahren schon in vielen Betrieben in den Vereinigten Staaten eingeführt hat, fehlten bis jetzt eingehendere Versuche über Minimum-Temperatur und Erhitzungsdauer. Verff. konstruierten für ihre praktischen Versuche zwei Heißluftsterilisatoren, einen mit Gas- und einen mit elektrischer Beheizung, beide groß genug, um darin mehrere Kannen, Melkeimer usw. unterzubringen. Die infizierten Geräte wurden feucht, wie sie nach Ausschwenken waren, in die Heißluftschränke gestellt. Sie zeigten sich bei 15 Min. dauernder trockener Einwirkung von 100° C genau so steril wie bei 15 Min. dauernder Dämpfung. Das an den Geräten haftende Wasser bewirkt, solange es nicht vollständig verdunstet ist, eine Art Vordämpfung. Es genügte auch eine 10 Min. dauernde Einwirkung von 93,3° C, um mit für die Praxis genügendem Erfolge die Bakterien-Infektion zu reduzieren sowie sämtliche Colikeime abzutöten. Ein weiterer Vorzug ist, daß die Geräte völlig trocken werden. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Demeter, K. J., und **Mossel, H.,** Zur Bekämpfung der Braunfleckigkeit von Camembert-Käse (Erreger: Penicillium bruneo-violaceum Biourge). (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. S. 248–262.)

Es wird der durch Penicillium bruneo-violaceum verursachte Käsefehler beschrieben, der sich durch braunrote bis braunviolette Flecken auf den reiferen Camembertkäsen äußert. Auf der Suche nach er-

folgreichen Bekämpfungsmaßnahmen wurden praktische Untersuchungen in folgender Richtung durchgeführt: Säurebehandlung, Anwendung von Diacasol und Ferriphosphat, Großdesinfektionsversuche, schwächere Salzung der Käse, reichlichere Beimpfung der Kesselmilch mit Edelschimmelkulturen, Lüftungskontrolle (Filtration) und keimfreier Filtration des Labextraktes. Schimmelhaltiger Labextrakt dürfte als die wahrscheinlichste Infektionsquelle in Betracht kommen. Zur Vorbeugung und wirksamen Bekämpfung des Käsefehlers werden oft wiederholte Großdesinfektionen, Lab- und Luftfiltration und einige andere Maßnahmen hinsichtlich Käsebehandlung empfohlen. H. Mossel (Weihenstephan).

Boekhout, F. W. J., und **Brouwer, E.,** Röntgenologische Untersuchungen von Käse. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 381—384, 3 Textabb., 1 Taf.)

Es gelang mit Hilfe eines einfachen Röntgenapparates (Philips-Metalix) von einem etwas geblähten Goudakäse brauchbare Röntgenphotographien herzustellen (einfache und Stereoaufnahmen). Die Entfernung von der Röhre bis zur Platte (Agfa-Röntgenfilm) betrug 70 cm, der Käse war 9,5 cm dick, die Belichtungszeit betrug 75 Sek. Ziemlich kleine Löcher von 3 mm Durchmesser ergaben noch ein deutliches Bild. Überschneidungen von in verschiedenen Ebenen liegenden Löchern sind deutlich zu erkennen. Besonders beim Betrachten der Stereobilder kommt die Raumwirkung sehr überzeugend zur Geltung. Verff. hoffen, daß sich das geschilderte Verfahren vielleicht für die Betrachtung von Handelskäsen auf dem Bariumplatinzyanürschirm, also ohne Herstellung von Röntgenphotographien, und für das Studium der Lochbildung während der Reifung eigne.

H. Mossel (Weihenstephan).

Hostettler, H., Die Anwendung der Gasanalyse zur Abklärung der Gärung im Hartkäse. (Landwirtschaftl. Jahrbuch d. Schweiz. 1932. S. 609—618.)

Mit Hilfe der chemischen Gasanalyse ist es möglich, die die Lochung im Emmentalerkäse verursachende Gärung zu verfolgen. Bei Nachgärungsfällen gestattet sie zu entscheiden, ob Propionsäure- oder Buttersäuregärung besteht.

Blähungserscheinungen bei Schmelzkäse können sowohl durch Buttersäure- als auch durch Propionsäuregärung verursacht werden.

Bei der Auswahl der zu Schmelzkäse zu verarbeitenden Rohkäse läßt sich mittels der Gasanalyse feststellen, ob der lagerreife Käse eine normale Gärung durchgemacht hat oder nicht.

Die aus „Picken", „Nestern", „nußschaligen" Löchern und „Nisserstellen" entnommenen Gase enthielten keinen Wasserstoff. Sie entstanden bei einer an diesen Stellen anders verlaufenen Propionsäuregärung. Sog. Viel- und Frühsetzer können ohne Mitwirkung fehlerhafter Blähungserreger entstehen. H. Mossel (Weihenstephan).

Prouty, Ch. C., and Bendixen, H. A., The viability of Lactobacillus acidophilus as affected by freezing in a Sherbet Mixture. (Journ. of Dairy Science. Vol. 15. 1932. p. 413—419.)

28 Sherbets (Wassereis) mit Acidophilusmilchzusatz wurden auf die Lebensfähigkeit der eingeimpften Azidophilusorganismen nach 1-,

2-, 3-, 5- und 7 tägiger Aufbewahrung bei Temperaturen unter — 17° C geprüft. Die zur Azidophilusmilchherstellung verwendeten 4 verschiedenen Stämme unterschieden sich in ihrer Lebensfähigkeit stark voneinander (in einem Fall waren nach 5 Tagen noch mehrere 100 Millionen am Leben, in einem anderen Falle nur mehr wenige Millionen). Desgleichen zeigten sich auch große Schwankungen innerhalb eines und desselben Stammes. Eine Anzahl dieser Sherbets wurde auch so hergestellt, daß nur die Reaktion unterschiedlich war. Die Absterbegeschwindigkeit nahm dann mit der steigenden Azidität zu. Die Zuckerkonzentration übte hingegen gar keinen Einfluß aus. Alles in allem zeigte sich bei einer Aufbewahrungstemperatur von — 17° C die Möglichkeit, Sherbets mit zahlreichen noch nach 5—7 Tagen lebensfähigen Acidophilusbakterien herzustellen, wenn resistentere Stämme verwendet werden und die titrierbare Azidität in mäßigen Grenzen gehalten wird (nicht über 1,0%). K. J. Demeter (Weihenstephan).

Deger, H., Untersuchungen über das Vorkommen von Milchsäurebakterien auf grünen Futterpflanzen. (Milchwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. 37. 1932. S. 1257—1261, 1269—1271.)

Mit Hilfe der Plattenmethode wurden von grünen Futterpflanzen 30 Stämme Milchsäurebakterien isoliert und morphologisch sowie physiologisch genauer untersucht. Geprüft wurde ihr Verhalten im Laktose-Bouillon-Federstrich, in Lackmusmilch, in der Laktose-Gelatine-Strichkultur sowie in der Zuckerreihe. Die meisten Stämme ähnelten dem Str. lactis am meisten, wenn auch ihr Verhalten verschiedenen Zuckerarten gegenüber mit dem echten Str. lactis nach Orla-Jensens Beschreibung nicht genau übereinstimmt. — Es war nicht möglich, genaue quantitative Werte auf den Futterpflanzen zu erhalten, auch ist ihr Vorkommen auf den grünen Pflanzen recht wechselnd. Sie sind keineswegs auf jedem Gras und zu jeder Zeit vorhanden. H. Mossel (Weihenstephan).

Ritter, W., Eine Nachprüfung des Ruschmannschen Kartoffelbreiverfahrens zum Nachweis von Buttersäurebazillen. (Landwirtschaftl. Jahrbuch d. Schweiz. 1932. S. 601—608.)

Bei Vergleichsversuchen mit Silofutter, Käse, Mischkulturen usw. konnte eine wesentliche Überlegenheit des Ruschmannschen Verfahrens gegenüber dem Dextrose-Agar-Verfahren (unter Verwendung pasteurisierten Materials) hinsichtlich des Nachweises von Buttersäurebazillen nicht festgestellt werden. Dem Dextrose-Agar-Verfahren ist der Vorzug zu geben, weil es eindeutigere Ergebnisse liefert und in der Durchführung einfacher ist. Es wird empfohlen, bei Anwendung des Kartoffelbreiverfahrens in Zweifelsfällen das Dextrose-Agar-Verfahren als Kontrolle zu verwenden.

H. Mossel (Weihenstephan).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Waksman, S. A., and Nissen, W., On the nutrition of the cultivated mushroom, Agaricus campestris, and the chemical changes brought about by this organism in the manure compost. (Amer. Journ. Botany. Vol. 19. 1932. p. 514—537.)

Bei der Kompostierung des als Nährsubstrat für den Champignon dienenden Düngers werden durch die spezifische Mikroflora die leicht angreifbaren Substanzen unter starker Wärmeentwicklung veratmet. Wenn der Dünger so für die Champignonkultur fertig präpariert ist, dann hat er einen beträchtlichen Teil seines Gehaltes an wasserlöslichen Substanzen, Ammoniak-N, Hemizellulosen und etwas weniger auch Zellulose verloren, während er umgekehrt angereichert ist mit Lignin, Gesamt-N und Asche. Es hat sich nun gezeigt, daß der Champignon gerade diese Substanzen, also auch besonders das Lignin für seine Ernährung bevorzugt. Dieser Pilz führt also die durch die Kompostierung eingeleitete Mineralisation der organischen Materie im Stallmist einen Schritt weiter, indem er auch das Lignin in den Kreislauf einbezieht. Bortels (Berlin-Dahlem).

Powers, P., Cyclotrichium meunieri sp. n. (Protozoa, Ciliata); cause of red water in the gulf of Maine. (Biol. Bull. Vol. 63. 1932. p. 74—80, 1 pl.)

Cyclotrichium meunieri, ein neues Ciliat, läßt im Golf von Maine im August das Wasser stellenweise bis zu einer Tiefe von 1—3 m rotgefärbt erscheinen. Es wird beschrieben und die Technik der Untersuchung angegeben. Das plötzliche schwarmweise Erscheinen zwischen dem Oberflächenplankton muß der periodischen Anreicherung des Wassers mit denitrifizierenden Algen zugeschrieben werden, die es zu einem ausgezeichneten Kulturmedium für die Ciliaten machen. Roter Darminhalt der daselbst gefundenen Fische, der sie unverkäuflich macht, scheint aus anderen Organismen zu bestehen. K. Friederichs.

Mikrobiologie von Holz, Kohle usw.

Beckwith, T. D., The bacteriology of pulp slime. (Journ. Bact. Vol. 22. 1931. p. 15—22.)

Der Schleim, der bei der Papierfabrikation die Löcher im fertigen Papier hervorruft, wird von einem Bakterium gebildet, das nach seinen morphologischen und physiologischen Eigenschaften mit B. aerogenes identisch ist oder ihm doch wenigstens sehr nahe steht. Verf. ist der Ansicht, daß das Bakterium durch das Wasser und nicht durch das Holz in die Papierfabrik gelangt. Thies (Hannover).

Horn, Otto, Die Entwicklung unserer Vorstellungen über die Entstehung der Kohlen. (Naturwissenschaften. Jahrg. 20. 1932. S. 648—652.)

Kurze, aber umfassende Sammeldarstellung mit ausdrücklicher Betonung der Wichtigkeit mikrobieller Vorgänge bei der Entstehung der Kohlen. Literaturangaben. Limbach (Leipzig).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Supper, R., Über die Wirkung von Trockenbeizen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. 42. Jahrg. 1932. S. 305—350.)

Die Wirkung der Saatbeizmittel Ceresan, Abavit B und Tutan gegen Fusarium, Helminthosporium und Tilletia wurde durch Bodenart und Bodenfeuchtigkeit, auch durch starke Bewegung sofort nach der Saat nicht nennenswert beeinflußt. Stark saure Bodenreaktion (ph in Wasser 6,35, in KCl 4,4)

setzt die Wirkung des Tutan deutlich herab, die des Abavit B weniger, die des Ceresan am wenigsten. — Um festzustellen, welche Zeit die genannten Beizmittel zu ihrer Wirkung benötigen, versuchte Verf. die Beizwirkung nach Ablauf verschiedener Zeiten durch Abspülen der Körner mit Wasser oder Chemikalien zu unterbrechen, nachdem die Körner in feuchten Sand ausgelegt waren; spätestens nach einem Tag war die Beizwirkung abgeschlossen. — Auf dieselbe Weise konnte die von E. Hiltner zuerst beobachtete Lagerbeizwirkung festgestellt werden. Durch Einschalten einer Lagerzeit konnte die Wirkung von Abavit B und Tutan ein wenig verbessert werden. Riehm (Berlin-Dahlem).

Niethammer, A., Die Beizwirkung von Germisan auf die Keimung einzelner Wiesengräser bei unterschiedlichen Keimtemperaturen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jahrg. 42. 1932. S. 364—383.)

Verf.n fühlt sich auf Grund ihrer Versuche mit einigen Poa-, Festuca- und Trisetum-Arten berechtigt, die Beizung dieser Wiesengräser der Praxis zu empfehlen, weil man häufig mit einer Verbesserung der Keimfähigkeit zu rechnen habe. Bei bestimmten Temperaturgefällen sind allerdings auch geringe Schädigungen zu beobachten. — Versuche mit Farbstoffen zeigten eine starke Speicherung an der Spitze der Körner im Perikarp, also nicht in unmittelbarer Nähe des Embryos; hieraus erklärt es sich, daß bei kurzer Beizdauer keine ernsten Keimschädigungen eintreten.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Tubeuf, von, Bekämpfung von Flechten und Moosen, besonders in Baumschulen und Forstgärten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jahrg. 42. 1932. S. 470—479.)

Flechten (Parmelia) an benadelten Fichtenzweigen wurden mit Kupferkalkbrühe abgetötet ohne Schaden für die noch in Winterruhe befindlichen Fichten. — Zur Bekämpfung in forstlichen Pflanzgärten schädlich auftretender Moose eignet sich Eisenvitriol selbst in 20proz. Lösung nicht; ein guter Erfolg wurde mit 20% $CuSO_4$ erzielt. Pinus-Arten, Picea excelsa, Abies pectinata, Larix europaea und Pseudotsuga douglasii viridis blieben bei diesem Versuch unversehrt.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Joessel, P. H., et Bordas, J., Recherches sur les dépérissements de l'Abricotier dans la vallée du Rhône. (Annales d. Epiphyties. Ann. 17. 1931. p. 332—359, 4 fig.)

Das Sterben der Aprikosenbäume im Rhonetal kann in einem Teil der Fälle zurückgeführt werden auf Dürre, auf die in den Wurzeln und im Wurzelhals lebenden Larven des Prachtkäfers Capnodis tenebrionis und auf den Pilz Armillaria mellea. In anderen Fällen steht eine sichere Diagnose noch aus. Verff. schreiben sie Bräunungen des Holzes zu, nekrotischen Wirkungen, die durch verschiedene Bakterien und Pilze der Gattungen Verticillium, Fusarium, Coryneum und Alternaria hervorgerufen werden können. Letzten Endes handelt es sich um Folgen unzureichender Hygiene der Obstgärten: am Baum belassene, durch Monilia abgestorbene Zweige, Wunden usw. Es handelt sich nicht

um einen neuen Parasiten des Aprikosenbaums, sondern um neuerdings stärker auffallende Erscheinungen, die ohne Zweifel schon seit langem bestehen. K. Friederichs.

Stein, E., Über den durch Radiumbestrahlung von Embryonen erzeugten erblichen Krankheitskomplex der Phytocarcinome von Antirrhinum majus. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 4. 1932. S. 523—538, 7 Abb.)

Durch 6stünd. Bestrahlung eines vorgequellten Samens von Antirrh. majus mit β-Strahlen entstand eine Defektmutation, die in der ersten Generation nicht merklich erkennbar war. Durch Kreuzung von Nachkommen der bestrahlten Pflanze mit nichtbestrahlten Individuen derselben erblich reinen Sippe wurde eine rezessive Erbanlage isoliert; die Pflanzen zeigten gedrungenen Wuchs und wiesen einen Zerfall ganzer Gewebsteile auf, so daß die Blätter wie angefressen aussehen. Die Gewebeveränderungen, die sich besonders in den oberirdischen Organen zeigen, werden genau beschrieben. In den Antheren wuchert das Tapetum durch das generative Gewebe hindurch, ein Vorgang, der von der Verf.n mit Veränderungen im krebskranken tierischen Gewebe verglichen wird.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Săvulescu, Tr., und **Rayss, T.,** Der Einfluß der äußeren Bedingungen auf die Entwicklung der Nigrospora oryzae (B. und Br.) Petch. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 5. 1932. S. 153—172.)

Die Verff. untersuchten die Wirkung von Temperatur und Feuchtigkeit auf Myzelwachstum, Sporenbildung und Sporenkeimung der Nigrospora oryzae und fanden, daß hohe Temperaturen, wie sie in Verbindung mit Trockenheit im Juli, August und Anfang September in Rumänien auftreten können, die Entwicklung des Pilzes hemmen. Freiland-Beobachtungen zeigten, daß die durch den Pilz hervorgerufene Maiskrankheit bei trockener Hitze zum Erlöschen kommt. — Im Laboratorium wurde das Verhalten des Pilzes auf sauren und alkalischen Nährböden studiert.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Minkevičius, A., Untersuchungen über den Einfluß der Narkose auf die Pilzempfänglichkeit der Pflanzen. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 5. 1932. S. 99—152, 14 Abb.)

Chloroformnarkose wirkte auf Bohnen wachstumshemmend, ebenso Alkohol- und Äthernarkose. Das Wachstum von Blumenkohl wurde dagegen durch Chloroform beschleunigt, etwas auch durch Alkoholnarkose. Die durch Narkose geschwächten Bohnenpflanzen wurden von Uromyces appendiculatus weniger befallen als normale Pflanzen; Alternaria brassicae befiel narkotisierte und nichtnarkotisierte Kohlpflanzen in gleicher Weise. Uromyces-Sporen wurden durch Narkotika nicht beeinflußt. Riehm (Berlin-Dahlem).

Schilcher, E., Über die Lebensdauer der Uredosporen Puccinia triticina. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jahrg. 42. 1932. S. 465—467.)

Nach amerikanischen Untersuchungen ist Aufbewahrung der Uredo-

sporen im Kühlschrank bei 9—12° C am zweckmäßigsten. Verf. bewahrte die Sporen in Petrischalen im Laboratorium, dessen Temperatur zwischen 9 und 22° C schwankten, auf und stellte fest, daß die Keimfähigkeit nach 4 Monaten nachließ, nach 6 Monaten erlosch.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Hassebrauk, K., Zur Bewertung der Saugkraft als Merkmal von Braunrotbiotypen. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 5. 1932. S. 173—178.)

Durch Sporenkeimversuche auf Zuckerlösungen verschiedener Konzentration kann man keine sicheren Unterschiede zwischen verschiedenen Biotypen ermitteln. Diese Feststellung steht im Gegensatz zu den Ergebnissen Steiners (vgl. Bd. 82. S. 459), der kein frisches, unter gleichmäßigen Bedingungen herangezogenes Sporenmaterial wie der Verf. verwendete.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Nielson, O., Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit des Kohls und die Trockenfäule an Kohlrüben. [Undersøgelser over „Black beg" paa Kaal og Tørforraadnelse paa Kaalrver.] (Tidssk. Planteavl. Bd. 38. 1932. S. 131—165.) [Mit engl. Zusfassg.]

Die aus den Vereinigten Staaten bekannte Schwarzbeinigkeit des Kohls wurde in Dänemark zuerst an Blumenkohl bemerkt. Von 80 untersuchten Kohlsamen-Proben erwiesen sich 20 als infiziert mit Phoma lingam. Der Pilz stimmt in den wesentlichsten Merkmalen mit Phoma napobrassicae überein, auch gelangen wechselseitige Infektionsversuche; Verf. hält daher beide Pilze für identisch. — Zur Saatgutdesinfektion erwies sich halbstündiges Vorquellen in Wasser und einstündige Tauchbeize mit 0,5% Uspulun als wirksam. Da der Pilz im Boden lange lebensfähig ist — in Versuchsgläsern hielt er sich 13½ Monate, obwohl der Boden 6 Monate lang ganz trocken war —, wird vernünftiger Fruchtwechsel empfohlen.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Tubeuf, von, Rhabdocline-Erkrankung an der Douglasie und ihre Bekämpfung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jahrg. 42. 1932. S. 417—425.)

Verf. tritt wieder energisch dafür ein, daß sämtliche Rhabdocline-Herde durch Fällung der erkrankten Bäume im Frühjahr und möglichst durch Verbrennen der grünbelaubten Reisigzweige ausgetilgt werden sollen. Allerdings sind in allen an Nord- und Ostsee grenzenden Ländern Herde; durch Wind und Pflanzenversand ist eine Ausbreitung in südlicher Richtung festgestellt. Süddeutschland rechts des Rheins ist aber nach Tilgung eines Herdes in Nordbayern frei; Verf. fordert vorläufig ein Verbot des Verkaufes und Versandes blauer und bläulicher Douglasien und eine Kontrolle der Handelsgärtnereien.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Phanerogame Parasiten, Unkräuter usw.

Uphof, J. C. Th., Tillandsia usneoides als Pflanzenschädling. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jahrg. 41. 1931. S. 593—607, 11 Abb.)

Von den in den Vereinigten Staaten auf verschiedenen Bäumen epiphytisch lebenden Bromeliaceen kann besonders Tillandsia usneoides schädlich werden. Diese auf Taxodium distichum, Pinus echinata, Citrus-Arten, Avocados und anderen Bäumen leben-

den Bromeliacee nimmt nach Regengüssen nur 52—70% an Gewicht zu; die besiedelten Zweige brechen dann bei Windstößen leicht ab. Eichen, Apfelsinenbäume, Acer rubrum wurden durch T. usneoides zuweilen vollkommen erstickt. Zur Bekämpfung hat sich mehr als die mühsame mechanische Entfernung das Bespritzen der Bäume mit einer Brühe bewährt, die aus Schwefelkalk (13 l), gebranntem Kalk (10 kg) und Kalziumcyanid (1 kg) besteht. Riehm (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Fulmek, L., Die San José-Schildlaus (Aspidiotus perniciosus Comst.) in Mitteleuropa. (Neuheiten a. d. Gebiete d. Pflanzenschutzes. Jahrg. 1932. S. 1—6.)

Überraschenderweise ist die San José-Schildlaus auf Obstbäumen in Mitteleuropa im Freien angetroffen worden. Sie hat vermutlich in abnorm heißen Sommern der letztvergangenen Jahre auch in Europa stellenweise sehr günstige Lebensbedingungen gefunden. Von der heimischen Art Asp. ostreiformis kann sie eigentlich nur durch mikroskopische Untersuchung unterschieden werden. Verf. beschreibt die Unterschiede genau und bezeichnet die in Amerika gebräuchlichen chemischen Mittel zur Bekämpfung von A. perniciosus. Wo diese Schildlaus bei uns auftritt, empfiehlt er restlose Vernichtung der befallenen Gehölze durch Petroleum und Feuer und gründliche Behandlung der Obst- und Ziergehölze in der Nachbarschaft: Bespritzung im Herbst mit 8—10proz. Obstbaumcarbolineum, im Frühling mit dreifach verwässerter Schwefelkalkbrühe (von 20 Bé) knapp vor dem Laubausbruch und im Sommer wiederholte Anwendung von 2% Tabakextrakt und ½% Schmierseife. K. Friederichs.

Betrem, J. G., Witte luis. (De Bergcultures. Vol. 6 22. 1932. p. 552—562, 4 Abb.)

Eine Übersicht über die an Kaffee in Java vorkommenden Cocciden, ihre Naturgeschichte und die Bekämpfungsmittel. Es handelt sich praktisch nur um Pseudococcus citri, Ferrisia virgata und Pseudococcus sp. (an Wurzeln). Die selten auftretenden Arten Ps. crotonis und adonidum richten keinen Schaden an. Die Einzelheiten des Vortrages sind meist aus der Literatur entnommen, von eigenen Erfahrungen bzw. Besonderheiten des Verhaltens der Läuse in Java seien folgende erwähnt: In Menge treten diese Schildläuse nur in der Trockenzeit auf. Ferrisia pflegt zuerst auf dem „lamtoro" genannten Schattenbaum zu erscheinen und von da auf den Kaffee überzugehen. Man bekämpfe sie auf den Schattenbäumen, ehe sie von den zuerst nur vereinzelten Herden aus sich stark verbreitet haben; sonst ist es zu spät. Die Bekämpfung geschieht durch Abbrennen mit einer Fackel oder durch Abschneiden der besetzten Zweige. Ps. citri wird durch Ameisen beschützt; die Bekämpfung kann sich daher gegen diese richten. Von chemischen Mitteln ist in Java praktisch nur eine Emulsion von Solaröl mit Seife.

K. Friederichs.

Miles, H. W., Biological studies on Sawflies infesting Ribes. (Bull. ent. Research. Vol. 23. 1932. p. 1—15, 5 pl.)

Bezieht sich auf die 3 an Ribes vorkommenden Arten Pteronidea ribesi, Pteronidea leucotrochus und Pristiphora pallipes. Die Bionomie wird beschrieben und auf guten Tafeln

dargestellt. Ribesi scheint 3 Generationen (in England) zu haben, Leucotrochus ist univoltin, Pallipes hat mehrere Generationen, die einander teilweise überdecken. Die beiden ersteren Arten bringen durch Parthenogenese nur ♂ hervor, Pallipes dagegen ist thelytok und pflanzt sich fast nur auf diesem Wege fort; ♂ sind so selten, daß der Verf. in 4 Jahren solche weder erzüchtet noch gefangen hat. K. Friederichs.

Sulc, K., Die tschechoslowakischen Lecanium-Arten. (Acta Soc. Sci. nat. Moravicae. Bd. 7. 1932. 134 S.) [Tschech. m. dtsch. Zusfassg.]

Da Lecanium-Arten in der Tschechoslowakei an Eschen, Akazien und Eichen verheerend auftreten, so bestand ein Bedürfnis für eine systematische Darstellung dieser Gruppe, die im praktischen Fall die sichere Erkennung der Art ermöglicht. Es wird daher eine Bestimmungstabelle mit guten Abbildungen und eine Kennzeichnung der einzelnen Stadien dieser Schildläuse gegeben; auch viele histologische Einzelheiten werden abgebildet. Die am meisten bekannte Art, L. coryli, gewöhnlich L. corni genannt, ist ein Mischbegriff; das eigentliche L. corni umfaßt als Synonyme auch noch ribis, rubi, vini, mori, rosarum, rugosum, wistariae, persicae, sarothamni und fraxini. Den Eichenbeständen sehr gefährlich ist L. pulchrum; sie kann beim Versenden von Setzlingen und bei Transport ungeschälten Holzes verschleppt werden. — Die Literatur über Schildläuse ist damit um eine sehr wertvolle Neuerscheinung bereichert. K. Friederichs.

Hart, P. C., De topboorderaantasting der rijpheidsmonsterstokken in oogstjaar 1931. (Arch. Suikerindustrie Ned. Indië. 1932. 25. 525—540.)

Scirpophaga intacta befällt das Zuckerrohr in Java um so stärker, je mehr Regen fällt. Dies kommt sowohl bei Vergleich des Befalls in verschiedenen Gegenden als auch bei Vergleich des Befalls in der gleichen Gegend in verschiedenen Jahren zum Ausdruck. Die Zuckerrohrsorten werden verschieden stark befallen; wenn der Befall der Sorte 2878 POI = 100 gesetzt wird, so schwankt er bei anderen Sorten zwischen 71 und 135. K. Friederichs.

Bovien, P., Om Porremølett (Acrolepia assectella Zell.) og dets biologi. (Tidskrift for Planteavl. Bd. 38. 1932. p. 334—344. 7 Abb.)

Die Lauchmotte ist in Dänemark seit vielen Jahren als ernsthafter Schädling des Porrees bekannt; von ihrer Bionomie aber wußte man bisher wenig. Die Motte überwintert als Imago und legt von Mitte Mai ab Eier an die Blätter von Zwiebeln und Lauch. Die nach wenigen Tagen ausschlüpfenden Raupen minieren für kurze Zeit in den Blüten und fressen dann in den Blättern und Stengeln; in letzteren lassen sie „Fenster" stehen, schonen also die Epidermis. Die erste Generation fliegt von Anfang Juli ab, die zweite im Oktober. Der eigentliche Schaden wird in Dänemark durch die zweite Generation angerichtet. Wiederholtes Spritzen mit 0,2 proz. Nikotinlösung brachte guten Erfolg. Abbrechen des befallenen Lauchs vermindert den Ertrag so sehr, daß es nur bei schwerstem Befall zu empfehlen ist. — In Zwiebelblättern miniert auch und verpuppt sich Hydrellia sp., ein Dipteron. K. Friederichs.

Elling, M., Eine interessante Erscheinung. (Wochenbl. Landwirtsch. Vereins in Bayern. Jahrg. 121. Heft 28. 1931. S. 499.)

Auf dem Klostergut St. Ottilien am Ammersee litt der Hafer seit Jahren sehr durch die Fritfliege. Dies wurde verhütet, indem Hafer mit Gerste im Gemisch ausgesäet wurde, etwa 4 Hafer zu 1 Gerste. Dieses Gemenge wurde im Gegensatz zu reinem Hafer nicht befallen. Es muß natürlich so zusammengestellt werden, daß die beiden Getreidesorten zu gleicher Zeit reifen (z. B. Gotenhafer und Hadogerste). „Bei der Aussaat von Hafer und Gerste kann außer der Immunität gegen die Fritfliege auch noch beobachtet werden, daß eine gewisse Wachstumskonkurrenz zwischen den beiden Pflanzen besteht und diese sich sehr vorteilhaft im Tempo des Wachstums auswirkt."

K. Friederichs.

Rude, C. S., Observations on a combined Boll weevil and Pink bollworm infestation in Northern Mexico. (Journ. econom. Ent. Vol. 25. 1932. p. 772—776.)

Im Staate Durango in Mexiko traf heftiger Befall der Baumwolle durch den Käfer Anthonomus grandis mit ebensolchem durch die Raupen von Pectinophora gossypiella zusammen. Obgleich bis zu 4 Käferlarven oder 3 Raupen in einer Frucht angetroffen wurden, wobei alle möglichen Kombinationen des zweierlei Befalls vorkamen, beeinträchtigten die beiden Schädlinge einander nicht. K. Friederichs.

Allen Mail, G., p_H and wireworm incidence. (Journ. econom. Ent. Vol. 25. 1932. p. 836—840.)

Drahtwürmer der Spezies Limonius canus wurden in weißem Kieselsand, dessen Säuregrad bekannt war, aufgezogen. Der Sand wurde einer chemischen Behandlung unterzogen, die chemische Fehlerquellen ausschloß. Als Pufferlösungen dienten $Na_2HPO_4 . 12\,H_2O$ und KH_2PO_4. Es wurden 7 Grade des ph hergestellt von 4,8—8,2, und die Gefäße, in denen sich gekeimter Weizen als Futter befand, in einer konstanten Temperatur von 22° gehalten. Die Mortalität war groß und sehr verschieden, aber ein großer Prozentsatz der Larven blieb sowohl in dem extrem sauren als auch in dem extrem alkalischen Medium am Leben. In der Natur wurden Drahtwürmer in Böden gefunden, deren ph zwischen 6,1 und 7,7 schwankte. Sie ertragen aber, dem Experiment zufolge, weit größere Differenzen, und ihr Vorkommen und ihre Menge wird offenbar durch andere Faktoren bedingt.

K. Friederichs.

Langenbuch, R., Beiträge zur Kenntnis der Biologie von Agriotes lineatus L. und Agriotes obscurus L. (Ztschr. angew. Ent. Bd. 19. 1932. S. 278—300, 12 Abb.)

Die eingesammelten Käfer wurden in mit Gerste besäten „Neubauerschalen" zur Eiablage veranlaßt, und zwar durch ein besonderes Verfahren am Rande des Gefäßes, damit die Entwicklung der Eier leicht verfolgt werden konnte. Die Imago von A. obscurus lebt vorwiegend am Boden, doch beschreibt Verf. ein besonderes Fraßbild an Gerstenblättern. Die von Blunck und Merckenschlager aufgedeckte Beziehung zwischen saurer Bodenreaktion und Befall durch Drahtwürmer konnte für die Larven von A. lineatus und obscurus bestätigt werden. In den Hauptbefallsgebieten wurde mit der kolorimetrischen Methode ph mit 4—5,2 ermittelt. In humosem Boden fraßen die L. nicht in den am stärksten besiedelten feuchten Schichten, sondern bei 40% Bodenfeuchtigkeit. In Quarzsand

ohne Humus dagegen entsprach die Stärke des Fraßes der Bevölkerungsdichte. Wahrscheinlich ernähren diese Drahtwürmer sich auch im Freien solange vorwiegend von den im Boden vorhandenen organischen Bestandteilen, als solche und vor allem die für ihre Aufnahme nötige Bodenfeuchtigkeit hinreichend vorhanden sind. Erhöhte Fraßtätigkeit an lebenden Pflanzen ist wahrscheinlich zum guten Teil auf Wassermangel zurückzuführen. In saurem Boden finden die Drahtwürmer meist viel humose Bestandteile vor. Die Anziehungskraft der Kartoffel beruht auf ihrem Wasserreichtum. Nahrung wird nur in flüssiger Form aufgenommen, Fäzes nur in flüssiger Form ausgeschieden. K. Friederichs.

Betrem, J. G., Ambrosia kevers. (Zesde Nederl. Indisch Natuurwet. Congres, Sept. 1931, Bandoeng [Java]. p. 440—448, 2 fig.)

Die Borkenkäfer Xylosandrus morigerus und morstatti schädigen die Kaffeebäume in Niederländisch-Indien, indem sie in kleinen Zweigen derselben brüten. Die zweite Art war noch vor wenigen Jahren in Java unbekannt, 1927 dagegen zeigte sich, daß sie über ganz Sumatra und West-Java verbreitet war. In Mittel-Java und Teilen von Ost-Java kamen beide vor, so auch in Celebes. Jetzt aber kommt in Mittel-Java an Kaffee nur noch Morstatti vor. Morigerus ist verschwunden. In Ost-Java hat Morstatti sein Verbreitungsgebiet ausgedehnt. Offenbar verdrängt er die andere Art mit der Zeit fast überall, so daß diese zum Relikt wird.

Die Nahrung des Käfers und seiner Brut besteht in den Ambrosiapilzen, die sich in den von ihm angebohrten Zweigen entwickeln. Sein Gedeihen ist deshalb vom Gedeihen des Pilzes abhängig, und dieser wächst stärker in der Regenzeit als in der Trockenzeit, weil in ersterer der Zweig einen höheren Wassergehalt hat. Dieser Wassergehalt hängt aber außerdem von der genotypischen Beschaffenheit des betreffenden Kaffeebaumes ab. Außer solchen Bäumen, die einen hohen Wassergehalt haben, werden auch diejenigen stark von dem Käfer angegriffen, welche aus irgendeinem Grunde geschwächt sind: sekundärer Befall. Bäume, die stark befallen werden, sind solche, an denen zugleich physiologisches Absterben von Zweigen häufig ist. Die Bekämpfung des „Takkenboeboek" muß außer in Selektion hauptsächlich in der Pflege des allgemeinen Gesundheitszustandes der Bäume bestehen. K. Friederichs.

Oekologie, biologische und chemiche Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Maclagan, D. St., An ecological study of the „Lucerne flea" (Smynthurus viridis Linn.). I. (Bull. ent. Res. Vol. 23. 1932. p. 101—145.)

Es wird zunächst auf die sonderbare Art der Verbreitung in zwei Parallelstreifen in der nördlichen und südlichen Halbkugel eingegangen, die Art des Schadens kurz bezeichnet. Die Art ist sehr polyphag, gedeiht aber am besten auf Trifolium. In England kommt es vor, daß auf Kleefeldern kaum ein nicht befressenes Blatt zu finden ist. Die Einzelheiten der Entwicklung und Bionomie werden beschrieben. Der Springschwanz wird von vielen anderen Insekten verfolgt (Käfer, Wanzen, Ohrwurm), dazu von Spinnen. Die relative Bedeutung jeder einzelnen Art dieser Feinde wird gewürdigt. Die Staphyliniden sind die wichtigsten unter ihnen. Gegenstand dieser Untersuchung sind weiter: der Einfluß der Bevölkerungsdichte auf die Vermehrung, der Temperatur und der Feuchtigkeit auf das Wachstum

und die Lebensdauer, die Bedeutung des Säuregrades des Bodens für den Springschwanz u. a. m. Zum Schluß wird darauf hingewiesen, daß die einzelnen physiologischen Prozesse, wie Wachstum, Fortpflanzung, Entwicklung des Eies, ganz verschiedene Optima haben, so daß unter einer „optimalen Umwelt" eine solche zu verstehen ist, welche dem für die Vermehrung positiv wirksamsten Kompromiß zwischen den verschiedenen einander widerstreitenden physiologischen Bedürfnissen entspricht.

K. Friederichs.

Koidsumi, K., On the fatal action of low temperatures upon the pupae and larvae of Melon fly (Chaetodacus cucurbitae Coquillett). (Bull. Dep. Agr. Gov. Res. Inst. Taihoku, Japan. Vol. 85. 1931. 68 p.)

Es galt festzustellen, ob diese Fruchtfliege, in Formosa und anderen warmen Ländern vorkommend, gegebenenfalls in Japan Fuß fassen könnte oder ob das Klima dies ausschließt. Konstanten Temperaturen von 12—0° gegenüber waren die zu den Versuchen verwendeten jungen Puppen und Larven des 3. Stadiums empfindlich, doch ist die Reaktion zugleich von anderen Umständen abhängig, insbesondere von der Jahreszeit. Als die niedrigsten die Entwicklung des Insekts ermöglichenden Temperaturen erwiesen sich 10° für Puppen und 10—11° für Larven. Gewöhnung an kälteres Klima ist denkbar. K. Friederichs.

Bodenheimer, F. T., Der Massenwechsel im Tierreich. (Forsch. u. Fortschritte. Jahrg. 7. 1931. S. 10.)

Der Verf. bringt die jetzige Kenntnis vom „Massenwechsel", d. h. der Bevölkerungsbewegung der Tiere in einigen knappen Sätzen zum Ausdruck. Er unterscheidet Lebensbedingungen im Standort, die unverändert bleiben (Boden, Vegetation) und solche, die von Jahr zu Jahr stark wechseln. Erstere bestimmen die Geeignetheit des Biotops für eine Tierart, die letzteren den Wechsel der Individuenzahl. Für Lufttiere ist dabei in erster Linie die Kombination von Lufttemperatur und Luftfeuchtigkeit entscheidend. Hiergegen tritt die Bedeutung von Licht, Alkalinität sowie diejenige der Verfolger des betreffenden Tieres stark zurück. In anderen ökologischen Gruppen treten andere Faktoren in den Vordergrund, die für verschiedene Gruppen angegeben werden. Obwohl Warmblüter von der Außenwärme weitgehend unabhängig sind, findet doch auch bei ihnen eine entscheidende Sterblichkeit im „Säuglingsalter" statt. Für den Menschen ist ebenfalls eine biologische Gesetzlichkeit der Bevölkerungsbewegung wahrscheinlich gemacht worden. Nach dem Mitscherlich-Baule schen Ertragsgesetz können die Wirkungen der Abweichung der Lebensbedingungen vom Optimum berechnet werden. „Wir formulieren das Gesetz des Optimums . . .: Jede Abweichung vom vitalen Optimum bedingt, vor allem während der empfindlichsten Entwicklungsstadien, eine Vitalitätsverminderung, deren Ausmaß von der Entfernung vom Optimum abhängt." K. Friederichs.

Rebel, H., Über den biologischen Wert von Larvensozietäten. (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Abt. 1. Bd. 140. 1931. S. 231—234.)

Das Zusammenleben der Raupen des Tagpfauenauges, Vanessaio, in großen Gesellschaften auf der Nesselpflanze bewirkt einen Schutz gegen Vögel. Es wurde beobachtet, daß wegen Nahrungsmangel sich vereinzelnde

Individuen, und nur diese, von einem Rotschwänzchen gefressen wurden. Außerdem bewirkt die Anhäufung der Individuen eine Aufmunterung zum Fraß, eine Art Futterneid, der zu erhöhter Nahrungsaufnahme und zu einer Beschleunigung der Entwicklung führt. Künstliche Isolierung junger Larven dieser Art bewirkt baldiges Absterben; bei älteren Larven tritt in solchem Falle eine Verzögerung der Entwicklung ein. K. Friederichs.

Jonescu, M. A., Beiträge zur Kenntnis der Fauna der Buchenwaldstreu von Sinaia und Valea Prahovei. Bukarest 1932. 100 S. [Rumänisch m. dtsch. Zusfassg.]

Es werden unterschieden Tiere, die die Waldstreu des Buchenwaldes (in Rumänien) ständig bewohnen, ferner solche, die darin nur vorübergehend sich aufhalten (wie Isopoden und Cocciden) und die zufällig darin vorkommenden. Acarinen und Collembolen machen 94% der Bewohner aus. Die Gesamtzahl der Bewohner auf bestimmter Fläche hängt nicht von der Dicke der Streu ab. Die jahreszeitlichen Schwankungen der Häufigkeit der Streubewohner werden graphisch dargestellt. Es wurden 4 bekannte und 5 neue Proturen-Arten gefunden sowie seltene Myriapoden. Es wurden auch ständig Copepoden in großen Mengen festgestellt. Diese Fauna bildet „eine natürliche Tiergesellschaft, eine selbständige biologische Einheit". K. Friederichs.

Headlee, Th. J., The problem of Codling moth control. (Journ. econom. Ent. Vol. 35. 1932. p. 545—554.)

Wenn der Apfelwickler in Obstgärten der U. S. A. nicht sehr stark auftritt, kann mit den üblichen Magengiften eine hinreichende Bekämpfung erreicht werden. Es können aber so riesige Mengen von Apfelmaden auftreten, daß mit allen zur Bekämpfung verfügbaren Mitteln kein gut verkäufliches Produkt erzielt werden kann. Da die einzige Jahreszeit, in der praktisch die gesamte Apfelwickler-Bevölkerung sich im Larvenzustand befindet, der Winter ist, so sollte zu dieser Zeit der Hauptangriff darauf einsetzen. Kiefernharzöle sind vielversprechend in dieser Hinsicht; andere Mittel, nämlich Gase und heißer Dampf, sollten versucht werden. Biologische Bekämpfung kommt schwerlich in Frage. K. Friederichs.

Houben, I., Über insektentötende Pflanzenstoffe. (Anzeiger f. Schädlingskde. Jahrg. 87. 1932. S. 83—88.)

Eine Übersicht über die bisherige Kenntnis von Art und Herkunft der aus Pflanzenarten der Gattung Derris gewonnenen Insecticide. K. Friederichs.

Ginsburg, J. M., and Schmitt, B., A comparison between rotonone and pyrethrins as contact insecticides. (Journ. econom. Ent. Vol. 25. 1932. p. 918—922.)

Da sowohl Derris wie Pyrethrum zur Zeit vielfach als Insecticide erprobt werden, interessieren besonders auch vergleichende Versuche mit beiden. Blattläuse und Honigbienen wurden bespritzt mit 1. reinem Rotenon, 2. mit einem Azeton-Auszug aus Derris-Wurzel mit etwa 3% Rotenon, 3. mit einem Auszug aus Pyrethrum-Blüten mit etwa 9% Pyrethrinen. Lösung 1 tötete in Stärke von 1 : 2500 von den Honigbienen 100%, bei 1 : 5000 nur noch 74,5%. Apfelblattläuse dagegen erlagen zu 93,4% einer Lösung von 1 : 10 000. Die zweite Lösung tötete bei 1 : 400 Bienen zu 100%,

Blattläuse zu 93%, und die dritte bei gleicher Verdünnung 89,3% Bienen, 52% Blattläuse. Derris-Extrakt und Rotenon sind also viel giftiger für Blattläuse als für Honigbienen, wogegen Pyrethurm-Extrakt in hoher Konzentration stärker auf Honigbienen als auf Blattläuse wirkt. Verf. betont demzufolge die selektive Wirkung der Insecticide, die gegen ein Insekt sehr wirksam und gegen ein anderes wenig wirksam sein können.

K. Friederichs.

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Bovien, P., On a new nematode, Scatonema wülkeri gen. et spec. n. parasitic in the body-cavity of Scatopse fuscipes Meig. (Diptera nematocera). (Vidensk. Medd. fra Dansk. naturh. Foren. Bd. 94. 1932. p. 13—32, 7 Abb.)

In der Leibeshöhle der Dungfliege Scatopse fuscipes leben Nematoden parasitisch, die mit der Gattung Tylenchus nahe verwandt sind, aber als Gattung und Art neu sind: Scatonema wülkeri. Bionomisch ist daran bemerkenswert, daß die Nachkommenschaft des Wurms völlig heranwachsen und selbst kopulieren kann innerhalb des mütterlichen Uterus oder der Leibeshöhle des Wirtes. Die Entwicklung dauert nur einige Wochen und vollendet sich, während der Wirt noch Larve ist. Morphologisch sind von Interesse die zwei ventralen Oesophagusdrüsen, welche den „subventralen" Oesophagusdrüsen der Tylenchen entsprechen. Die „dorsale" Drüse fehlt. Die Männchen haben weder Stilette noch Drüsen. Protandrischer Hermaphroditismus kommt nicht vor, und Verf. bezweifelt, daß solcher überhaupt bei den Tylenchinae vorkommt. Freilebende Formen von Sc. wülkeri werden in Eigelegen von Scatopse oder in Dung gefunden.

K. Friederichs.

Verschiedenes.

Gassner, G., und Goeze, G., Zur Frage der Frosthärtebestimmung durch refraktometrische Untersuchung von Pflanzenpreßsäften. (Phytopat. Ztschr. Bd. 4. 1932. S. 387—413, 4 Abb.)

Da die Frosthärte des Getreides in Beziehung zu dem Zuckergehalt steht, hatte man versucht, auf Grund refraktometrischer Untersuchung die Frosthärte zu beurteilen. Die Verff. konnten zeigen, daß die Refraktometermethode für pflanzenzüchterische Zwecke zur Bestimmung der Frosthärte ungeeignet ist, weil sie zuviel Fehlerquellen aufweist.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 20. Dezember 1932.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 87. No. 17|23.
Ausgegeben am 8. Februar 1933.

Nachdruck verboten.

On Gluconic acid Fermentation. Part III[1]).

On Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum I, II & III, nov. spec.

[Faculty of Agriculture, Tokyo Imperial University, Komaba, Tokyo, Japan.]

By Teizo Takahashi and Toshinobu Asai.

In the first communication (1) on this subject the authors have described mainly on the nature of Bacterium Hoshigaki var. rosea. In the later publication (2) oxy-gluconic acid or 5-ketogluconic acid, which was produced from glucose in presence of ca-carbonate by the three species of acetic bacteria, isolated from the dried persimmon (Hoshigaki) was specially recorded. In this paper, the properties of these acetic bacteria are to be described.

Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum I, nov. spec.

This bacteria was described formerly (3) under the name of Bact. industrium var. Hoshigaki.

Gluconic Acid produced by Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I.

In yeast water (100 c. c.) containing glucose (10 g) this bacteria produces about 100% of gluconic acid after 20 days at 26—28° C. thus:

Glucose Consumed g.	Acidity as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. medium	Volatile acid, as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. medium	Gluconate of Ca. obtained g.	Gluconic acid obtained g.	Gluconic acid, Calcu. from acidity	Gluconic acid × 100 / Total sugar	Gluconic acid % as to theoritical yield
9.42	52.0	5.5	11.5	10.0	10.08	100	97.4

The identification of the acid formed was undertaken quite the same way as in the former publication (1).

Form and size.

This one is a short or long bacillus with round ends and generally occurs in single but seldom in pairs or often in chains, 1.5—3.0 μ long, 0.5—0.8 μ thick. It is motile and has a tendency becoming long cells in the

[1]) Part II of this communication was published in Vol. VI. Nr. 73—75. p. 100—103 of Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan.

Fluid Culture, at 26—28° C.

Media	Growth	Form and size	Involution form	Remarks
Koji-ext.	Turbid after 2 days and thin gray film attained to the wall formed, with bacteria ring. Turbid even after 20 days.	Short rods, generally single but seldom pair or in chain 1.0 × 1.5—2.0 μ.	Occurs abundant as swollen cell, 2—3 × 3—5 μ. Threads are rare.	—
Wort.	Same as in Koji-ext. culture after 2 days, with difference of the deposit is brown. Fluid clear after 20 days.	Short rods, with somewhat accute ends. Single, but rare in chain. Uncertain in size; 1 × 2.0—2.5 μ, 0.5—0.8 × 1.0—4.0 μ.	Occurs in abundance as swollen cell or long thread of 200 μ long.	No red colour perceivable.
Persimmon extract.	Little turbid but no film aft. 2 days. Very thin film appears with yellowish deposit aft. 4 days.	Short rods, single. 0.8—1.0 × 1.0—2.0 μ.	Same as Wort culture, but thread about 100 μ long.	—
Persimmon ext. with 3% alcohol.	No turbidity after 2 days. Little turbid with very thin film, which is friable aft. 4 days. Turns clear after 20 days.	Generally long rods and single but rarely in pairs. Size of 0.5—1.0 × 0.8—3.0 μ or 0.8 × 1.5—2.0 μ.	Same as persimmon ext. culture, but long thread has no swollen. part.	
Glucose-yeast water.	Same as Koji-ext. or wort culture after 2 days with grey, white deposit. Fluid turbid even after 20 days.	Short rods, single or pairs; 0.8—1.0 × 1.0—2.0 μ.	Long thready cells with swollen part. Gigant cells present.	—
Yeast water.	No turbidity after 2 days as seen by persimmon ext. After 4 days fluid was turbid with very thin film. Clear after 20 days.	Same as Glucose-yeastwater culture. 0.8—1.1 × 1.0—1.5 μ.	Occurs as short thread., Gigant cells measure 1.5 — 2.0 × 3.0 μ.	
Hopped wort.	Same as in the culture of wort., but with slimy film, which sinks down on agitation as entangled thread.	Single or in chain, with the size of 0.8—1.0 × 1.0—2.5 μ.	Occurs as the culture of wort, but the addition of chain of thread. Gigant cell measures 2× 3.5 or 2 × 4—3× 7 μ.	—
Beer. (Alcohol 4%).	Same as the culture of persimmon w. 3% alcohol, but the film adheres to the wall and sinks as a mass by shaking.	Short rods with somewhat accute ends, single or pairs of size 0.8—1.0× 1.0—2 μ.	Similar to persimmon ext. with 3% alcohol. Size of 70 μ long.	—

Fluid Culture, at 26—28° C (Continuation).

Media	Growth	Form and size	Involution form	Remarks
Alcohol free beer.	After 2 days, fluid was almost clear, but with thin film and bacteria ring at vessel's wall. By shaking they sink down as a mass. After 20 days no turbidity but with grey de-deposit.	Same as the culture in beer, but chain form was observed here. 0.8—1.0× 1,5—2.5 μ.	Occurs gigant cells in predominancy, almost lacking long thready cells. 2.0—3.0× 4.0—6.0 μ.	—
Glucose saké.	Turbid aft. 2 days, with white film and bacteria ring which ascend to the wall. The film alters to a slime and adds yellowish white deposit after 4 days. Fluid was clear after 20 days.	Rods, single or pairs 0.8—1.0× 1.0—3.0 μ.	Occurs in abundance. Thread cells with swollen part occur in chain form. Some measures over 100 μ. Gigant cells are sized; 2.0× 3.5—4.0 μ.	No red colour perceivable.
Alcohol free glucose-saké.	Turbid after 2 days and the film formed was quite same as in the culture of 4 days in glucose-saké. No turbidity after 20 days.	Same as in glucose-saké.	Same as in the culture of glucose-saké.	—
Bouillon.	After 2 days the fluid was clear but very thin folded film was formed. The film sinks to bottom by shaking. Fluid was clear after 20 days	Short rods; 0.8× 0.8—1.5 μ.	Long mycelial cells predominate, without swollen part.	
Beijerinck's solution.	No growth.	—	—	—
Pasteurs solution.	No growth.	—	—	—
Henneberg's second solution.	No growth.	—	—	—
Henneberg's solution w. asparagin.	No growth.	—	—	—
Henneberg's solution with poptone.	After 5 days, the fluid was clear but with grey white thin film, which could not cover whole surface ev. after 14 days.	—	The acidity attained to 6.1 c. c. of n/10 NaOH solution with 5 c. c. of the culture, after 14 days.	—

Fluid Culture, at 26—28° C (Continuation).

Media	Growth	Form and size	Involution form	Remarks
Henneberg's solution with urea.	Almost no growth.	—	—	—
Janko's solution.	No growth.	—	—	—
Fuhrmann's solution.	No growth.	—	—	—

N. B. The mode of the preparation of artificial nutrient solution is described in Part I. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. 1930. Bd. 82. S. 392—393 or Bull. of Agric. Chem. Soc. of Japan. Vol. 6. No. 73—75. p. 89—90.)

Agar Stab. Incubated at 26—28° C.

Media	Remarks on growth
Dried persimmon extract agar.	Almost no growth even after 4 days. Irregular shining colony with rosy red colour appeared at the mouth of stab after 14 days. In the stab canal a feeble hairly growth was perceivable along its upper part.
"Koji" extract.	Almost no growth after 2 days. After 4 days rosy red thin filmy shining colony developes along the mouth of stab and stretches to the wall. The growth altered to a brown coloured pasty mass after 14 days.
Wort agar	After 2 days grey white pasty shining colony with convex center was perceived. The colour changed to brown after 4 days. After 14 days the growth altered to purple brown pasty granular aggregates.
Glucose yeast water agar.	After 2 days developed shining white foulded filmy colony along the mouth of the stab. After 14 days the growth stretched over whole surface of medium.
Glucose saké agar.	After 2 days small shining granulous colony developed along the mouth of stab. After 4 days the colony acquired very irregular form and grey colour. After 14 days added the filiform developement at upper part of stab.
Bouillon agar.	Thin filmy foulded colony formed at the mouth of stab after 2 days and it remained almost no change until after 14 days.

surface culture. The pellicle in fluid media has no reaction of starch or cellulose, but just colours yellow by iodine. It has vigorous tendency to change to involution form at room temperature. Some of the involution form, attaining to over 200 μ, have swollen part but have no branch growth.

As tabulated above this bacteria forms acids from arabinose, glucose, fructose, galactose, sucrose, maltose, lactose, raffinose, dextrine, starch, inulin, glycole, ethyl alcohol, propyl alcohol, glycerine, mannite, sorbite but not from methyl alcohol. It forms rosy red coloured growth in the medium containing such polyhydric-alcohols as glycole, glycerine, mannite and sorbite.

Agar Streak, at 26—28° C.

Media	Remarks on growth	Form and size	Involution forms
Dried persimmon ext. agar.	After 2 days, grey white granular shining colonies were grown along streak line. Later, the colony acquired brown colour and in condensed water of flocculum of growth was present.	Short rods, single. 1.0—1.5 × 1.5—3.0 μ.	Long swollen thready cells occur. 2.0—2.5 × 3.5—4.0 μ.
Wort agar.	After 2 days similar growth as above, but with difference of smooth filiform growth at the lower part of medium by this case, and it was rose red coloured by this medium. Later the colour of growth changed to purple rose then to rosy red brown.	Short rods, single or chain. 1.0—1.5 × 2.0 μ.	Swollen cells occur. 2.0 × 3.0—6.0 μ.
"Koji" ext. agar.	After 2 days similar growth as in wort agar, but differs by granular boder at the lower part of growth by this medium. Later the growth acquired cocoa colour. Condensed water gave film and deposit.	Short rods, single. 1.0 × 1.5—2.0 μ.	Short thread cells occur.
Glucose yeast water agar.	After 2 days white shining granular growth was observable. Later, it acquired light brown colour, and irregular boder.	Short rods, single or chain. 1.0—1.2 × 1.5—2.0μ.	Swollen cells measure 2.0—2.5 × 3.0—4.0 μ. Long thread cells occur rarely.
Glucose saké agar.	After 2 days grey white shining growth and granulous at upper part and boder of lower part of streak. Later the colour changed to yellowish grey.	Short rods, single or in chain. 1.0—1.5 × 1.2—3.0 μ.	Occur as short threads 6—10 μ long.
Bouillon agar.	After 2 days grey white feeble granular (upper part) or smooth (lower part) growth was perceivable.	Long rods, single. 1.0—1.5 × 2.0—3.0 μ.	Long thready cells occur in abundance. Some of them attain over 100 μ long.

Plate Culture, at 26—28° C.

"Koji"-extract agar.	Yellowish white shining round colonies after 3 days. Later they gained light yellowish brown colour and center became elevated. The edge was smooth.
Wort agar.	Round colonies with pearly luster after 3 days. Later they gained yellowish brown colour. The other points are same as the growth in "Koji"-extract agar.
Dried persimmon ext. agar.	Grey white shining round colonies after 3 days. Later the center of them gained yellow colour with elevation.
Glucose yeast water agar.	Milk white somewhat shining round colonies after 3 days. The other points are same as in dried persimmon extract agar, except erosed edge by this case.

Acid formation from carbohydrates and alcohols. (Incubated at 26—28° C. during 22 days.)

The culture medium was prepared from yeast water to which every carbohydrate or alcohol was added in proportion of 2%.

Carbohydrates or Alcohols	Remarks of growth	Acidity expr. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of solution	Acid formation	Remarks
Arabinose.	After 2 days a little turbidity, with thin film was formed. After 22 days film acquired grey white colour, and bacteria ring was perceived at wall with brown deposit below.	3.7	+	
Glucose.	More vigorous growth and turbidity than above case after 2 days. After 22 days brown deposit formed under clear fluid.	13.2	+	
Fructose.	Thin lucid bacteria ring formed after 2 days. After 22 days rosy red viscous film formed with addition of rosy red deposit.	3.2	+	
Galactose.	Little turbid with thin film, which sticking to the wall. After 22 days grey white film formed beside bacteria ring also added yellow deposit.	3.6	+	
Sucrose.	Little turbidity and thin grey white bacteria ring after 2 days. After 22 days the film gained light purple colour and added trace of brown deposit underneath.	2.8	+	Fluid after the growth of bacteria reduced Fehling's solution.
Maltose.	Same growth as in case of sucrose after 2 days. After 22 days there added trace of of gray deposit.	1.3	+	
Lactose.	Same growth as in case of fructose after 2 days. After 22 days same as in case of maltose.	1.0	+	
Raffinose	Same growth as in case of maltose differing by lacking film after 2 days. After 22 days added very thin lucid film with trace of deposit.	1.3	+	Fluid after the growth of bacteria, reduced Fehling's solution.
Dextrin.	No growth after 2 days. After 22 days lucid thin film formed with trace of deposit.	1.4	+	

Carbohydrates of Alcohols	Remarks of growth	Acidity expr. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of solution	Acid formation	Remarks
Starch.	After 22 days formed a trace of bacteria ring.	1.3	+	
Inulin.	Thin gray white film formed after 2 days and margin part sticked to the wall. After 22 days small deposit formed in clear fluid.	1.3	+	Fluid reduced Fehling's sol. in a small degree, after the growth of bacteria.
Methyl alcohol.	Lucid thin bacteria ring after 2 days. Somewhat turbidity with yellowish white deposit after 22 days.	0.6	—	
Ethyl alcohol.	Thin film and under which the fluid was turbid after 2 days. The fluid altered clear and spotted thin gray film formed over it after 22 days.	17.1	+	
Propyl alcohol.	No growth after 2 days. After 22 days, thin gray white slimy film and bacteria ring were formed. Fluid was clear with trace of brown deposit.	11.10	+	
Glycole.	Lucid film formed after 2 days. After 22 days the film get gray colour adding bacteria ring and trace of rosy red-deposit.	1.7	+	
Glycerine.	After 2 days the fluid was turbid and very thin film sticking to the wall was perceived. After 22 days the film gained rosy red colour, forming bacteria ring at the wall of vessel, with addition of heavy deposit of same colour.	2.2	+	Fluid reduced Fehling's solution without heating.
Mannite.	After 2 days, fluid turned turbid with white film. After 22 days the film gained purple rosy colour with viscous consistency adding bacteria ring and rosy coloured deposit.	3.0	+	Reduced Fehling's solution.
Sorbite.	Same as the case of mannite solution after 2 days. After 22 days formed gray coloured film and bacteria ring, with rosy red deposit.	1.8	+	Reduced Fehling's solution.
Yeast water.		0.6		

Resistance against glucose and optimum concentration of it for the acid formation. (Incubated at 26—28°.)

The yeast water containing glucose, varying from 5 to 50% as shown in the case of Bact. Hoshigaki var. rosea [1]) was used for this purpose. From these cultures just four cases are given viz. 5, 10, 35, 50% of glucose.

% of glucose	Remarks on growth		Acidity exp. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c of the culture	Gluconic acid %
	After 2 days	After 22 days		
0			0.6	—
5	Heavy turbidity with gray white bacteria ring.	Fragmental film and brown deposit in clear fluid.	27.6	5.40
10.0	Heavy turbidity with white viscous film and bacteria ring.	Film with brown deposit.	53.2	**10.52**
35.0	Turbid just upper part of fluid with very thin film.	Very thin film and milky white bacteria ring with yellow brown deposit.	102.0	**19.99**
50	No growth.	Trace of deposit.	4.6	0.90

From the above table it seems that 50% of glucose is the highest limit of concentration for the growth of this organism. The optimum concentration of glucose for acid formation was 10%, giving 10.52% of gluconic acid. It is worth of mentioning that the bacillus flourishes well in the medium containing 45% of glucose, in which Bact. Hoshigaki var. rosea makes no growth whatsoever. Also the maximum concentration of gluconic acid gained in the culture was 19.99%, which was found in the culture containing 35% of glucose.

Resistance against ethyl alcohol.

Concent. of ethyl alcohol %	Remarks of growth		Acidity expres. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of the culture	Acetic acid %
	After 2 days	After 22 days		
0			0.6	—
1	Little turbidity.	Formed thin and spotted film with bacteria ring.	15.0	0.9
3	Little turbidity.	Gray white thin film with bacteria ring.	22.6	1.35
5	No growth.	Gray white thin film.	22.6	1.35
7	No growth.	Thin film and bacteria ring.	16.2	0.97
8	No growth.	Gray white foulded film formed.	1.1	—
10	No growth.	No growth (?).	1.0	—

[1]) Nihon Nogei Kwagaku Kwaishi. Vol. VI. No. 3. March 1930.

The yeast water, containing ethyl alcohol in varying concentration, was used for this purpose and after seeding with bacillus incubated at 26—28° C. during 22 days as given above.

The limit of resistance against alcohol lies between 8—10% of ethyl alcohol.

Resistance against common salt.

"Koji"-extract (12° C.) containing the desired concentration of common salt, varying form 1.0 to 5%, was used as culture medium and incubated at 26—28° C. during 20 days.

As the result, there was found that common salt in the medium plays some deteriorating role even at its smallest concentration (1.0%) and a trace of both growth and acid production were observable even in presence of 3% of common salt. In the case of 5% of the salt there was not found any growth whatsoever.

Temperature for growth, acid production and death.

The optimum temperature for the growth in wort agar was 25—26° C. and at 40—41° C. there was no growth, although at 12—15° C. or at 35—37° C. very slight growth was perceivable.

The death of this bacillus was perceived when it was heated five minutes at 50° C. in sterilised tap water.

The optimum temperature for acid production was found to lay between 24—25° C. from the culture of this bacillus in yeast water containing 10% of glucose as shown below:

Temperature ° C.	Acidity expr. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of the culture. After 6 days
12—15	3.6
20—22	51.4
24—25	53.0
26—28	50.0
30—31	43.4
34—36	28.2
39—40	1.0

The maximum yield of gluconic acid.

Yeast water containing 10% of glucose (Merck) was seeded with this bacillus and incubated at 26—28° C. during 50 days, giving rise 10.38% of gluconic acid as the maximum yield after 6 days from the beginning, as shown below:

Days	Acidity: c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of the culture	Gluconic acid %
2	37.0	7.25
4	50.8	9.95
6	53.0	10.38
8	52.0	10.19
42	53.0	10.27
50	52.4	10.38

Is acetic acid oxidized or assimilated by this bacillus?

To yeast water containing 3% of ethyl alcohol was seeded with this bacillus and incubated at 26—28° C. After definite intervals some of these cultures were examined for its acidity and the results are scheduled below:

Duration of cultivation. Days	Acidity of each 10 c. c. of the medium	
	Alcohol added prior to the seeding	Control: Acetic acid added and no infection of bacillus made
5	1.4	37.2
8	1.4	34.8
12	26.4	35.8
15	25.8	—
20	26.4	34.0
30	25.0	—
40	21.2	33.0

Affinities and characters of Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I.

This bacillus is motile and gives swollen or long involution forms in abundance. In fluid media it causes turbidity and forming film, which gave neither starch nor cellulose reaction. Thus differentiating this one from Bact. Pasteurianum group and also Bact. xylinum group. All carbohydrates tested were converted into acid and this property assimilates this bacillus to Bact. industrium or Bact. oxydans, both species under Bact. rances group, but differentiate this from Hermann's Bact. gluconicum. Neverthless, this one makes no growth in Beijerinck's and Pasteur's nutrient solution and by this property it could not belong to Bact. aceti Pasteur group ofter Hoyer's system (4), and the inverting faculty of cane sugar of this one distinguishes itself from a large group of Bact. rances after the same system.

The faculty of the invertion of cane sugar is a quite specific character of Bact. aceti Pasteur group.

From Hermann's coccus, viz. Bact. gluconicum, this one differs by the property of giving film in fluid media, forming involution forms and acidifying maltose, lactose, starch und inulin. Also the gluconic acid production of this bacillus up to the most largest quantity ever known is other property to distinguish this from Hermann's coccus. The authors Bact. Hoshigaki var. rosea, differs from this one by rosy red colour production in the media containing ca-carbonate, lacking the inverting faculty of cane sugar and the less oxidizing faculty of glucose than this bacillus, and absence of the same faculty to maltose, sucrose, lactose, raffinose, dextrine, starch and inulin.

Other character distinguishing this one from authors' Bact. Hoshigaki var. rosea is the formation of oxy-gluconic- and glucuronic acids in presence of ca-carbonate in the nutrient solution.

Thus the properties stated above, characteristic to this one, induce us to distinguish this bacillus as quite a new one and we should like to propose the name "Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum I".

The other two varieties named provisionally Bacterium B and C in the first communication (5). of this report and their characters are described below.

Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum II, nov. spec. (Bacterium C.)

Form and size.

It occurs as short rods, 1.0—3.6 μ long and 0.5—1.0 μ thick. Generally occur in single, often in pairs or in chains and is motile. Involution forms occur very rarely but when happen appear as curved short thread. The cells stain just yellow by iodine solution without any reaction of cellulose. The viscous pellicle is formed in the fluid media, causing turbidity in the latter. The film in fluid media sinks down to bottom but soon follows the reformation.

Gluconic acid produced by Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II.

In yeast water containing 10 g. of glucose, this one produced 8.27 g of gluconic acid during 13 days of cultivation at 26—28° C. as shown below:

Glucose consumed g	Acidity as c.c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture.	Volatile acid (n/10 NaOH c. c.)	Ca-gluconate ($+1 H_2O$) g	Gluconic acid g	Gluconic acid from titration g	Gluconic acid × 100 / sugar consumed	Gluconic acid % against theoretical yield
8.25	43.0	2.3	9.23	8.27	8.38	100	91.9

Fluid Culture, at 26—28° C.

Media	Growth	Form and size	Involution form	Remarks
"Koji"-extract.	Very turbid with viscous film after 2 days. Film thickens day by day and after 9 days added foulds to it, a. also bacteria ring a. brown deposit. Clear after 30 days.	Short rods, single or pairs. 1.0—1.5 × 1.0—2.0 μ.	Short threads generally curved. Some with swollen bulb. Generally 10 μ long but rarely attains ov. 30 μ.	—
Wort.	Turbid and thin film with bacteria ring after 2 days. After 9 days film changed to viscous one. Turbid even after 30 days.	Short rods, single or pairs. 0.8—1.0 × 1.5—2.0 μ.	Almost none.	—
Hopped wort.	Turbid and thin film after 2 days. Heavy turbidity with grey white thick viscous film and yellowish brown deposit after 9 days. Turbid even after 30 days.	Short rods, single or pairs. 0.5—0.8 × 0.8—2.0 μ.	Short threads of 15—20 μ long.	—

Media	Growth	Form and size	Involution form	Remarks
Dry persimm. extract.	Turbid and begins to form thin viscous film after 2 days. After 4 days begins to form bacteria ring with white deposit.	Short rods, single or pairs. 0.6—0.8 × 0.8—1.0 μ.	None.	—
Glucose-yeast water.	Almost equal to the culture of persimmon extract.	Short rods, single but in seldom pairs or chain.	Short threads, generally curved. Often with swollen bulb. Some attain to 40 μ.	—
Alcohol yeast water.	Light turbid after 2 days. Turbidity becomes heavy after 4 days. Added trace of bacteria ring and yellow brown deposit.	Short rods, single or pairs. 0.9—1.0 × 0.9—1.8 μ.	Occur very rarely. Just short curved thread. About 10 μ long.	—
Yeast water.	A trace of turbidity after 2 days. Film formed after 4 days. Trace of deposit after 9 days. Fluid clear after 30 days.	Short rods, 0.9 × 0.9—1.8 μ.	None.	—
Beer (4% of alcohol).	No growth after 2 days. Thready suspension after 4 days. Viscous film with heavy turbidity accompanying brown deposit after 9 days. Fluid clear after 30 days.	Short rods, single or pairs. 0.5—1.0 × 1.0—3.0 μ.	Occur very rarely. Curved short thread.	—
Alcohol free beer.	Turbid after 2 days. Thin film after 4 days. Thready growth along wall of tube with grey white deposit. Fluid clear after 30 days.	Short rods, single or pairs. 0.5—1.5 × 0.8—3.0 μ.	None.	—
Glukose saké.	Turbid with thin film and bacteria ring after 2 days. After 4 days the film increased in thickness. Light rosy red deposit added after 9 days. Fluid clear after 30 days.	Short rods, single, pairs or chain. 0.9—1.0 × 1.0—3.0 μ.	Occur rarely as short thread and generally curved with swollen bulb.	—
Alcohol free glucose saké.	Strong turbid with white and thick viscous film. After 7 days added rosy red deposit. Clear after 20 days.	—	—	—

Media	Growth	Form and size	Involution form	Remarks
Bouillon.	No growth after 2 days. A little turbid after 9 days. Clear after 30 days.	Short rods, single or pairs. 0.8—1.0 × 0.8—3.0 μ.	Occur rarely as curved short thread.	—
Beijerinck's solution.	No growth after 2 days. After 5 days turbidity was perceived just by shaking and added grey white deposit.		No growth in solution when distilled water was used.	—
Pasteur's solution.	Turbid after 2 days. After 5 days still a trace of turbidity with grey white deposit.		No growth in solution when distilled water was used.	—
Henneberg's second. solution.	Turbid a. formed thin viscous film after 2 days. Film adhered to wall of the tube after 5 days. After 14 days added white bacteria ring and gray white deposit.	Short rods, single or pairs. 0.9 × 1.8—2.7 μ.	None.	Acid formed corresponding to 23.0 c. c. of n/10 NaOH solution after 28 days (in 10 c. c.).
Fuhrmann's solution	Turbid and thin film formed after 2 days. After 5 days the film changed to viscous consistency and added white bacteria ring. Turbid even after 14 days and added yellowish brown deposit at the time.	—	—	Acid formed-corresponding to 23.4 c. c. of n/10 NaOH, after 14 days (in 10 c. c.).
Janke's solution	A trace of growth.	—	—	—
Henneb. solut. w. 0.5% of asparagin.	Grows well.	—	—	Acid formed corresponding to 17.8 c. c. of n/10 NaOH (in 10 c. c.).
Same but w. 1% of peptone.	No growth.	—	—	—
Same but w.0.5% of urea.	No growth.	—	—	—

Thus, this organism grows well in Henneberg's second solution and Fuhrmann's solution but not in Pasteur's solution showing that it assimilates inorganic nitrogen only in presence of sulphate in solution. The non-assimilability of urea by this one, characterizes this one and as already been stated Bact. Hoshigaki var. rosea.

Agar Stab., Incubated at 26—28° C.

Media	Remarks on growth
Dried persimmon extract agar.	Grey white pasty colony makes its growth at the mouth of stab after 2 days, but a little along the canal. Foulds appeared at the surface of colony. Network-like foulds at the center of the growth and radiated at the margin after 14 days.
"Koji"-extract agar.	Grey white colony became visible around the mouth of stab after 2 days, but the growth along the canal was not conspicuous. After 14 days the growth at the mouth of stab changed to light brown past myass.
Wort agar.	The growth after 2 days was quite same as in the case of "Koji"-extract agar except the luster of the growth by this medium. After 14 days the growth altered to yellowish grey coloured waxy mass.
Glucose yeast water agar.	Grey white filmy growth was perceived along the mouth of stab and a little at upper part of canal after 2 days. Granular growth along the mouth of stab after 4 days.
Glukose saké agar (alcohol free).	Grey white colony, creatorial concave at the centre, grew after 2 days, and hair-like growth at the canal. After 4 days the centre of colony coloured rosy red, and it changed to rosy coloured pasty mass after 14 days.
Bouillon agar.	Grey white foulded shining colony formed after 2 days, but no growth at the canal.

Agar Streak, at 26—28° C.

Media	Remarks on growth	Cell form and size
Dried persimmon.	Grey white shining growth appeared along the streak line after 2 days, and lower part of the growth was granulous and formed film in condensed water. Growth became foulded and fade after 4 days.	Short rods, single or in chain. 0.8—1.0 × 1.0—3.0 μ. Involution form occur rarely.
Wort agar.	Yellowish brown coloured shining growth appeared along streak after 2 days. After 14 days the luster of growth became fade but acquired elevation at middle part and lacerated boder.	Generally single. Involution from occurs. 1.0×2.0—3.0 μ.
"Koji"-extract agar.	Grey white shining colonies of smooth boder became visible after 2 days. After 8 days the growth gained the form of elevated filiform with lacerated boder. After 14 days the growth gained shining light brown colour.	Generally single but rarely in in pairs. 0.7—1.0×0.8—2.0 μ. Involution form occurs very rarely.
Glucose yeast water.	Milky white shining colonies were visible along streak after 2 days. After 4 days it gained yellowish colour and elevation of central part. It became fade after 14 days and gained granular surface and lacerated boder.	The majorities are single. 1.0—1.5×1.0—3.0 μ.

Media	Remarks on growth	Cell form and size
Glukose saké agar (free fr. alcohol).	Rosy red shining colonies bevisible after 2 days. The elevation of middle part of growth and laceration of boder were perceived after 4 days.	Generally single. 1.0×2.0—2.5 μ. Involution form was not obersved.
Bouillon agar.	Grey white shining colonies became visible along streak after 2 days.	The majorities are single 1.0—1.5×1.2—3.0 μ. Involution forms occur.

Plate Culture, at 26—28° C.

"Koji"-extract agar.	Grey white granular shining colony became visible after 2 days. Later the colour changed to yellowish then to dark brown. The edge was smooth.
Wort agar.	Growth was moist and other characters are quite same as "Koji"-extract agar.
Dried persimmon ext. agar.	Almost same as the growth in "Koji"-extract agar.
Glucose yeast water agar.	Light grey white moist and shining colony was visible after 2 days and other properties are quite same as "Koji"-extract agar.

The formation of acid from carbohydrates and alcohols. (Incubated at 26—28° C.)

Carbohydrates or alcohols (2% in yeast water)	Growth	Acidity as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture after 20 days	Acid-formation	Remarks
Arabinose.	Somewhat turbidity and bacteria ring were visible after 2 days. white thin film and trace of brown deposit after 20 days.	3.6	+	
Glucose.	Heavy turbidity and thin grey viscous film were visible after 2 days. Bacteria ring and yellowish brown heavy deposit after 20 days.	9.8	+	
Fructose.	After 2 days as in case of arabinose. Yellowish brown deposit and thin white film after 20 days.	1.0	+	
Galactose.	Turbidity and viscous ring became visible after 2 days. Foulded grey white film and yellow brown deposit formed after 20 days.	3.4	+	
Sucrose.	Little turbid just at upper part of fluid and little growth adhered to the wall of tube after 2 days.	1.0	+	Reduces Fehling's solution.

Carbohydrates or alcohols (2% in yeast water)	Growth	Acidity as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture after 20 days	Acid formation	Remarks
Maltose.	Turbid and beginning of film became visible after 2 days. Film and trace of bacteria ring with little yellowish brown deposit.	0.5	—	
Lactose.	Turbid and bacteria ring after 2 days. Viscous mass suspended and thin bacteria ring with yellowish brown deposit after 20 days.	0.7	—	
Raffinose.	Little turbid after 2 days. Grey white bacteria ring with yellowish brown deposit after 20 days.	1.4	+	
Dextrine.	Little turbid and beginning of bacteria ring after 2 days. After 20 days added white suspended growth and yellowish brown deposit.	0.6	—	
Starch.	Trace of growth.	0.6	—	
Inulin.	Trace of turbidness and white bacteria ring became visible after 2 days. Added white suspended film and brown deposit after 20 days.	0.6	—	
Methyl alcohol.	No growth after 2 days. White mass of growth and grey white bacteria ring with yellowish brown deposit were perceived after 20 days.	0.4	—	
Ethyl alcohol.	Heavy turbidity after 2 days. After 20 days added grey white foulded viscous film both grey white bacteria ring and yellowish red deposit.			
Propyl alcohol.	No growth after 2 days. Grey white thin film became visible after 4 days. After 20 days added to it brown deposit.	11.10	+	
Glycerine.	Trace of turbid and white bacteria ring after 2 days. After 20 days added heavy yellowish red deposit and bacteria ring get yellow tinge.	1.10	+	Reduces Fehling's solution without heating.
Mannite.	Turbid and bacteria ring after 2 days. After 20 days added suspended mass of growth and yellowish deposit.	1.10	+	Reduces Fehling's sol. when hot.
Sorbite.	Little turbidity and thin grey white film were visible after 2 days. No turbidity and added trace of yellowish white deposit after 20 days.	0.90	+	Same as above.

As seen from the table Bacterium C. (Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II) produce acid from arabinose, glucose, fructose, galactose, sucrose, raffinose, glycerine, mannite, sorbite, ethyl alcohol and propyl alcohol but not from maltose, lactose, dextrine, starch, inulin and methyl alcohol.

Resistance against glucose and optimum concentration of it for the acid formation. (At 26—28° C.)

The nutrient solution was quite same as in the case of Bact. Hoshigaki var. rosea and the results are tabulated below:

Glucose %	Acidity after 20 days. Exp. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture	Gluconic acid formed %
5.0	19.0	3.72
10.0	50.4	9.87
20.0	78.2	15.32
30.0	84.0	16.46
35.0	97.0	**19.01**
40.0	73.0	14.30
45.0	63.8	12.50
50.0	36.0	**7.05**
55.0	3.4	trace

Resistance against ethyl alcohol (at 26—28° C.).

Ethyl alcohol % in yeast water	Remarks on growth		Acidity after 20 days. Exp. by c. c. of n/10 NaOH	Acetic Acid %
	After 2 days	After 20 days		
0	Little turbid	No turbidity but viscous thin film and yellowish brown deposit	0.40	—
1.0	Turbid and grey white film	Viscous film	0.40	—
3.0	—	White bacteria ring and reddish brown deposit	9.0	0.54
5.0	—	White thin film and yellow brown deposit	14.8	0.88
6.0	—	Turbid and white bacteria ring wth redidish brown deposit	12.0	0.72
7.0	—	Thick milky white film with little grey white deposit	0.8	—
8.0	—	Same as 7% case but with little turbid	0.6	trace
10.0	—	Thick foulded film	0.6	trace
12.0	—	Turbid and trace of film and deposit	—	—

Resistance against acetic acid (at 26—28° C.).

Acetic acid % added[1]) to beer	Remarks on growth				Acidity: c. c. of n/10 NaOH sol. for 10 c. c. of culture	Original acidity of media
	After 3 days	After 5 days	After 8 days	After 20 days		
0	Bactoria ring	Turbid and viscous bact. ring	Same as before	Same as before but added grey brown deposit	17.2	1.2
0.5	—	Little turbid and bacteria ring	Turbid and viscous suspended growth	Added bacteria ring and brown deposit	25.4	8.2
1.0	—	Little turbid and bacteria ring	Turbid and viscous film	Same as before but added yellow brown deposit	30.0	16.6
1.5	—	—	Same as above	Same as before but added grey brown deposit	24.6	24.8
2.0	—	—	Little turbid and bacteria ring	Turbid and trace of yellow brown deposit	37.6	33.2
2.5	—	—	Same as above	Same as above	46.2	42.0

[1]) Original beer contained 4.0 v.% of alcohol and acidity of 1.2 c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of it.

Resistance against common salt (at 26—28° C.).

Common salt. % in "Koji" ext.[1])	Remarks on growth		Acidity after 20 days. Exp. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture
	After 3 days	After 20 days	
0	Heavy turbidity and white viscous film with bacteria ring	Almost no turbidity but added grey white bacteria ring and brown deposit	35.6
1.0	Beginning of film	Incomplete film and trace of brown deposit	10.2
1.5	—	Trace of brown deposit	3.2
2.9	—	—	1.6

[1]) "Koji" extract of 12° B., contained acidity such as 2.0 c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of it.

The high resistant power of this one against glucose, such as flourishing in solution containing 55% of glucose and giving rise gluconic acid in it, could not be overlooked. Because such property was not found in both Bact. Hoshigaki var. rosea and Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I and III. Optimum concentration of glucose for the acid formation was 10% of it in solution.

Temperature for growth, acid production and death.

The optimum temperature for growth in wort agar was 30—31° C. It could not grow either at 10—15° C. or above 40° C. Its death comes at 55° C. in 5 minutes in water of water supply.

The optimum temperature for acid production was 26—28° C., giving 8.93% in six days, but almost none at 12—15° C. or 39—40° C. It will be seen in the table below:

Temperature ° C	Acidity after 6 days. Exp. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture	Gluconid acid formed %
12—15	20	trace
20—22	29.2	5.72
24—25	34.0	6.66
26—28	**45.6**	**8.93**
30—31	30.8	6.03
34—36	16.4	3.21
39—40	2.0	trace

The maximum yield of gluconic acid and duration of cultivation in glucose yeast water at 26—28° C.

The maximum yield of gluconic acid in 10% of glucose solution at optimum temperature of its production were found after 18 days of cultivation. It amounted to 9.87% corresponding to 50.4 c. c. of n/10 NaOH solution.

Is acetic acid oxidized by this bacillus?

The culture was made quite same as other species in alcohol yeast water and the maximum production of acetic acid attained after 15 days, such as 27.4 c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture. It reduced to 16.8 c. c. of n/10 NaOH after 20 days and after 35 days decreased to 0.2 of n/10 NaOH, indicating the oxidation or assimilation of acetic acid by this organism.

The rate of production of gluconic acid and form of nitrogen in nutrient solution. (At 26—28° C.)

As stated above the assimilation of nitrogen in different forms by this organism could not be overlooked; because some form of these nitrogen compounds is better or profitable than other by giving rise a larger amount of gluconic acid in medium.

The results of the cultures are tabulated below:

Form of nitrogen in media[1])	% of nitrogen compound in media	Acidity exp. as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of media	Gluconic acid %
Peptone	0.1	51.2	10.03
	0.2	**53.0**	**10.28**
	0.6	52.0	10.19
	1.0	48.0	9.40
	1.5	49.5	9.50
	2.0	48.0	9.40
Urea	0.05	39.0	7.64
	0.15	36.6	7.17
	0.25	31.0	6.07
	0.35	30.0	5.88
	0.60	6.5	1.27
Am-phosphate	0.07	49.5	9.50
	0.20	51.0	9.99
	0.35	52.0	**10.19**
	0.50	52.0	**10.19**
	0.70	51.0	9.99
	1.00	51.0	9.90
Am-sulphate	0.1	48.0	9.40
	0.3	43.5	8.52
	0.5	44.0	8.62
	0.7	39.5	7.74
	1.0	39.5	7.74
Am-nitrate	0.07	22.5	4.41
	0.20	8.5	1.66
	0.35	4.1	trace
Na-nitrate	0.07	no growth	—
	0.20	„ „	—

[1]) Medium consist from acid K-phosphate 0.3 g. Mg-sulphate 0.2 g., Glucose 10 g. and dist. water 100 c. c. and nitrogen compound.

Affinities and characters of Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum II.

According to the classification of acetic bacilli after Hoyer, this bacterium behaves like Bact. aceti Pasteur group or Bact. xylinum Brown group in the faculty of inverting sucrose, but from the character of the film in nutrient solution and motility of this one differentiate this from the latter one. On the other hand, this one makes only poor growths both in Beijerinck's[1]) solution or in Pasteur's solution[2]) without giving any film and by this character could not belong to Bact. aceti Pasteur group.

The film formed by this one gave neither starch nor cellulose reaction and by this character this one may be differentiated from both Bact. Pasteurianum group and Bact. xylinum group.

In nutrient solution containing 55—60% glucose it grows well, the property differing from Bact. Hashigaki var. rosea or Bact. industrium var. Hoshigaki (Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I).

It makes growth in solution containing even 12% of ethyl alcohol.

[1]) F. Rothenbach, Untersuch. u. Organism. d. Gär.-Ess., S. 205.
[2]) D. P. Hoyer, Beiträge z. Kenntn. d. Essigbakt. 1899. S. 4.

It oxidizes acetic acid opposit to Bact. Hoshigaki var. glucuronicum III.

It makes poor growth in Beijerinck's or Pasteur's solution, could assimilate inorganic nitrogen (ammonium salt) in Fuhrmann's or Henneberg's second solution. By this property this one differs from Bact. Hoshigaki var. rosea and Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I.

As to the faculty of the production of gluconic acid this bacterium stand below of Bact. Hoshigaki var. rosea and Bact. industrium var. Hoshigaki (Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I) but still surpass that of Bact. industrium Henneberg.

This produces glucuronic acid in solution in presence of Ca-carbonate and we propose the name Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum II.

Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum III. Nov. spec. (Bacterium B.)

Form and size.

Short rods, of the size of 0.8—2.0×1.2—4.0 μ, but generally 1.0—1.5×1.5—3.0 μ. Chiefly occur as single but sometimes in pairs or chain form and motile. Involution forms occur rarely, but in glucose yeast water or Henneberg's solution occur in abundance and even in solid media they are found in seldom. They appear as swollen threads. The cells stain just yellow by iodide solution without showing any reaction of cellulose.

Gluconic acid produced by Bact. hoshigaki var. glucuronicum III (at 26—28° C.).

Glucose consumed in yeast water g.	Acidity as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture	Volatile acid (n/10 NaOH. c. c.)	Ca-gluconate (1 H_2O) g.	Gluconic acid g.	Same from titration g.	$\frac{\text{Glucon. a.}}{\text{sugar cons.}} \times 100$	Gluconic acid % against theorit. yield
8.04	42.0	1.6	8.50	7.62	8.2	94.7	86.9

Fluid Culture (at 26—28° C.).

Media	Growth	Form and size	Involution form
"Koji"-extract.	Almost no growth after 2 days. Strong turbidity and thin viscous film after 4 days. After that the growth was same as Bact. Hosh. var. glucuronicum II.	Quite same as Bact. Hoshig. var. glucuronicum II.	Occur rarely with irregular form. No long thready cell.
Wort.	A little turbid and incomplete white bacteria ring after 2 days. After 4 days strong turbidity and added thin viscous film and brown deposit. Later the growth was almost same as Bact. Hosh. var. glucuronicum II.	Same as var. glucuronicum II.	Occur as swollen cell.

Media	Growth	Form and size	Involution form
Hopped wort.	A little turbid and thin viscous film after 2 days. Grey white bacteria ring after 4 days. After 8 days added grey brown deposit.	Short rods, single or in chain. 0.8—1.0 × 1.0 1—.5 μ.	Occur as short thread cell.
Dry persimmon ext.	Turbid and trace of film after 2 days. After 4 days the film altered to viscous and added light reddish brown deposit.	Same as in culture of hopped wort.	Occur as long thread. Some attain to 50 μ long.
Glucose yeast water.	Almost same as in the culture of dry persimmon extract.	Short rods mainly single. 1.2 —1.5 × 1.5— 3.0 μ.	Occur in abundance as swollen cell.
Yeast water.	No growth after 2 days. A trace of film after 4 days. Added a trace of deposit after 9 days.	Short rods, single or pairs or in chain 0.8— 1.0 × 1.0— 3.0 μ.	Occur as long thread. 70 μ long.
Beer (alcohol free).	A little turbidity after 2 days. After 9 days increased the turbidity and growth adhering to the wall of tube.	As above, and 1.0—1.2 × 1.5 —3.0 μ.	Occur as long thread, and swollen cells rarely.
Glucose saké.	Heavy turbidity and white viscous film after 2 days. After 4 days added light brown deposit. No turbidity after 25 days	Short rods, single or pairs. 1.0 —1.5 × 1.5— 2.0 μ.	Occur often but swollen cells are rare.
Alcohol free. glucose saké.	Strong turbidity after 2 days. After 4 days white somewhat thick film and yellowish brown deposit.	Short rods, single or pairs. 1.0 1.2 × 1.2— 3.0 μ.	Occur rarely as swollen threads.
Bouillon.	No growth.	—	—
Beijerinck's solution.	Now growth.	—	—
Pasteur's solution.	No growth.	—	—
Henneberg's second solution.	Turbid and white viscous film after 2 days. After 8 days added white bacteria ring and light brown deposit.	Short rods, single. 1.5—3.0 × 2.0—4.0 μ.	Occur in abundance.
Fuhrmann's solution.	Turbid after 2 days. After 5 days added bacteria ring. After that, same as the culture of Bact. Hoshi var. glucuronicum II.	—	Acid formed correspond to 20 c. c. of n/10 NaOH sol. after 14 days.
Janke's solution	A trace of growth.	—	—
Henneberg's solution with 0.5% asparagin.	Grows well.	—	Acid formed. corresp. to 1.8 c. c. of n/10 of NaOH sol.
Same but with 1% of peptone	Grows well.	—	Same 24.8 c. c. of n/10 NaOH.
Same but with 0.5% of urea.	Grows well.	—	Same of 13.6 c. c of n/10 NaOH. sol.

Agar Stab (incubated at 26—28° C.).

Media	Remarks on growth
Dried persimmon extract agar.	Almost same as the growth of Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II, only differing by the hairly growth in stab canal by this one.
"Koji"-extract agar.	Grey white pasty growth at the mouth of stab canal after 2 days. After 5 days yellow brown growth along the wall of tube. After 8 days growth altered to grey brown.
Wort agar.	Yellow elevated colony at the mouth of stab canal after 2 days. After 5 days gained shining grey brown colour and formed bacteria ring at the wall.
Glucose yeast water agar.	Grey white shining colony at the mouth of stab canal. After 5 days colour changed to light yellow brown and after 8 days to yellow brown.
Glucose saké agar (alcohol free).	Yellow white colony at the mouth of stab and hairly growth at upper part of the canal after 2 days. After 5 days added ringly growth at wall. After 8 days gained light rosy brown colour.
Yeast water agar.	Yellowish white shining colony at the mouth of stab canal after 2 days. Almost the same after 5 days.

Agar Streak (at 26—28° C.).

Media	Remarks on growth	Form and size
Dried persimmon ext. agar.	Grey white growth along the streak after 2 days. After 5 days the growth gained foulds and condensed water contained deposit. After 8 days colony gained grey colour.	Very short cells, single. Involution form is rare. 0.8—1.0 × 1.0—1.5 μ.
Wort agar.	Yellowish white shining growth along the streak after 2 days. After 8 days contral part of growth gained yellowish brown colour and at boder grey white. Condensed water contained film and deposit.	Very short cells. Generally single. 1.0 × 1.2—2.0 μ. Involution form in abundance.
"Koji"-extract agar.	Milky white pasty shining colonies appeared along the streak after 2 days. After 5 days the growth gained yellowish white colouration with lacerated boder. After 13 days appeared streams from convex middle to either sides. Condensed water contained film.	Very short cells. Commonly single. 1.0 × 1.0—2.0 μ. Involution form occurs rarely.
Yeast water agar.	Yellowish white feeble shining growth along the streak after 2 days. After 8 days lower part of streak acquired yellow colour.	Short rods. 1.0—1.5 × 1.5—3.0 μ. Involution form occurs.
Glucose yeast water.	Yellowish white somewhat shining colonies along the streak after 2 days. After 8 days the growth appeared as convex aggregate of granular colonies and gained grey yellow colour.	Very short cells. Commonly single. 1.0 × 1.5—2.0 μ. Involution forms occur in abundance.
Glucose saké (alcohol free).	Yellowish white colonies along the streak line and film in turbid condensed water after 2 days. After 5 days light rosy yellow coloured shining pasty growth was perceived.	Short rods, generally single. 1.0—1.2 × 1.5—3.0 μ Involution form was not found.

Plate Culture (at 26—28° C.).

Media	Remarks on growth
"Koji"-extract agar.	Almost same growth as experienced by Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II.
Wort agar.	Wet granular colonies with luster after 2 days. They gained gradually yellowish white to dark brown colour at central elevated part and grey white at smooth periphery.
Dried persimmon.	Same as in the culture of wort agar.
Glucose yeast water agar.	Almost same as observed by Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II. Only difference is uneven periphery of the colony by microspic observation in this organism.

The formation of acid from carbohydrates and alcohols. (Incubated at 26—28° C.)

Carbohydrates or alcohols (2% in yeast water)	Growth	Acidity as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture after 20 days	Acid formation	Remarks
Arabinose.	A little turbidity after 2 days. Strong turbidity and thin viscous film after 4 days. After 20 days bacteria ring partly formed and yellow brown deposit.	2.6	+	
Glucose.	A little turbidity after 2 days. Heavy turbidity after 4 days, with white viscous film and bacteria ring. Rosy grey deposit after 20 days.	6.2	+	
Fructose.	A little turbidity and growth at wall after 2 days. After 4 days added partly formed bacteria ring and film. After 20 days added white deposit.	1.2	+	
Galactose.	A little turbidity after 2 days. After 4 days added new turbidity and viscous suspended mass of growth. After 20 days added rosy grey deposit and bacteria ring.	1.6	+	
Sucrose.	A little turbidity after 2 days. After 4 days added turbidity and viscous bacteria ring.	2.5	+	Reduced Fehling's solution.
Maltose.	A little turbidity and viscous suspended growth and bacteria ring after 4 days. After 20 days added grey white deposit.	0.80	—	
Lactose.	Turbid just lower part of fluid after 2 days. After 4 days added viscous suspension and bacteria ring. After 20 days added grey white deposit.	0.60	—	

Carbohydrates or alcohols (2% in yeast water)	Growth	Acidity as c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture after 20 days	Acid formation	Remarks
Raffinose.	A little turbidity after 4 days. After 12 days added a part of bacteria ring. After 20 days added grey white deposit.	0.90	—	
Dextrine.	Turbid after 4 days. After that, growth was same as Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II.	0.80	—	
Starch.	Very feeble growth.	0.60	—	
Inulin.	A little suspension after 4 days. After 12 days added thin bacteria ring and grey white deposit.	0.60	—	
Glycerine.	A little turbidity and a part of bacteria ring after 4 days. After 20 days added grey white deposit.	0.90	+	Reduced Fehling's solution without warming.
Mannite.	A little turbidity after 2 days. Viscous bacteria ring after 4 days. After 12 days added film from which hang a thready growth. After 20 days added rosy grey deposit.	0.7	—	Reduced Fehling's solution when hot.
Sorbite.	A little turbidity and viscous bacteria ring after 4 days. After 20 days added grey brown deposit.	0.7	—	
Methyl alcohol.	No growth after 4 days. A little turbid, bacteria ring and viscous suspended growth after 12 days. After 20 days added grey white deposit.	0.6	—	
Ethyl alcohol.	A little turbidity after 4 days. After 12 days added bacteria ring. After 20 days added grey white deposit.	19.50	+	
Propyl alcohol.	A little turbid after 2 days. After 4 days added bacteria ring and yellowish brown deposit.	14.20	+	

Resistance against glucose and optimum concentration of it for the acid formation (at 26—28° C.).

Glucose %	Acidity after 20 days, exp. by c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. of culture	Gluconic acid formed %
5.0	23.2	4.54
10.0	40.0	7.84
20.0	54.8	10.74
30.0	54.6	10.70
35.0	21.2	4.15
40.0	11.4	2.23
50.6	1.0	—

Resistance against ethyl alcohol (at 26—28° C.).

Ethyl alcohol. % in yeast water	Remarks on growth		Acidity after 20 days, exp. by c. c. of n/10 NaOH	Acetic acid %
	After 2 days	After 20 days		
0	Little turbid.	Added powderly growth in suspension.	0.8	—
1.0	No growth.	Turbid after 5 days and after 20 days added bacteria ring and grey white deposit	11.4	0.68
3.0	No growth.	Same as above.	30.6	1.83
5.0	No growth.	No growth.	0.50	—
6.0	No growth.	No growth.	No growth.	—

Resistance against acetic acid (at 26—28° C.)

Acetic acid % added to beer	Remarks on growth				Acidity: c. c. of n/10 NaOH sol. for 10 c. c. of cult.	Original acidity of media
	After 3 days	After 5 days	After 8 days	After 20 days		
0	Bacteria ring.	Added turbidity.	Added a part of film.	Added grey whte deposit.	16.0	1.2
0.5	Little turbidity.	Added viscous bacteria ring.	Same as before.	Same as before.	19.6	8.2
1.0	No growth.	Turbid and thin film.	Same as before.	Same as before.	22.0	16.6
1.5	No growth.	Turbid and powderly suspended growth.	Added white bacteria ring.	Added a trace of deposit.	28.8	24.8
2.0	No growth.	No growth.	No growth.	A little turbidity.	33.6	33.2
2.5	No growth.	No growth.	No growth.	Trace of turbidity and trace of deposit.	36.6	42.0

As shown in the table this organism could not grow in bouillon and by this character differs from Bact. Hoshigaki var. rosea and Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I and II.

The death temperature and optimum temperature for growth and acid production.

The optimum temperature for growth in wort agar was 30—31° C. It makes no growth either at 10—15° C. or above 40° C. Its death comes at 55° C. in 5 minutes in tap water. The optimum temperature for acid production was 26—28° C. giving rise 6.74% of the acid in 6 days, but almost non at 12—15° C. or 39—40° C.

Resistance against common salt (at 26—28° C.).

Common salt % in "Koji"-ext.[1])	Remarks on growth		Acidity after 20 days. c. c. of n/10 NaOH for 10 c. c. culture
	After 3 days	After 20 days	
0	Heavy turbidityand white viscous thin film.	Added deposit after 6 days.	31.2
1.0	Turbid and powderly film.	Added bacteria ring after 6 days and added brown deposit after 20 days	5.2
1.5	—	Trace of brown deposit.	2.6

[1]) The contents of acid and concentration of extract are same as in case of Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II.

The maximum yield of gluconic acid. (At 26—28° C.)

The maximum yield of gluconic acid in 10% of glucose solution at optimum temperature of its production were found to be 8.54%, corresponding to 43.6 c. c. of n/10 NaOH solution, and it was after 18 days of cultivation.

Is acetic acid oxidized by this organism?

The culture was made in alcohol (3%) yeast water quite same as other species, but the decrease of acetic acid, once formed, was not found even after 35 days of cultivation.

Affinities and characters of Bacterium Hoshigaki var. glucuronicum III.

After Hoyer's classification of acetic bacilli, this one like Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II seems to belong to the group of Bact. aceti Pasteur or Bact. xylinum Brown, but from the character of the film in nutriment and motility of this one differentiate this from the latter one. However, this one could not grow in Beijerinck's solution[1]) and cause just turbidity in Pasteur's solution so that it could not belong to Bact. aceti Pasteur group[2]).

This one, unlike Bact. Hoshigaki var. rosea, could assimilate nitrogen from urea and by this character also differs from Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II. It could not produce red colour even in solution containing calcium carbonate and differs from Bact. Hoshigaki var. rosea. From Bact. Hoshigaki var. glucuronicum II this one differs in many points viz. by the less productivity of gluconic acid, by the inferior growth in nutrient solution, by the absence of acid production from raffinose, glycerine, mannite and sorbite, by absence of the oxidation or assimilation of acetic acid, by the less resistant power for glucose and ethyl alcohol.

It assimilate inorganic nitrogen (ammonium salt) in Fuhrmann's or Henneberg's IInd solution, although it could not grow in Bei-

[1]) F. Rothenbach, Untersuch. u. Organgismus d. Gär. Essig. S. 205.
[2]) Hoyer, Beiträge z. Kenntnis d. Essigbakt. 1899. S. 4 u. 35.

jerinck's solution. By this property this one differs from Bact. Hoshigaki var. rosea and Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I.

This one produces in solution containing ca-carbonate glucuronic acid from glucose and we propose the name Bact. Hoshigaki var. glucuronicum III.

Bibliography.

(1) Nippon Nogei Kagaku Kaishi. Vol. 6. No. 3. March. 1930; and: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1930. S. 390—405. — (2) The Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan. Vol. 6. No. 73—75. 1930. p. 100—103. — (3) Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1930. S. 400, 401; und: Ebenda. Bd. 84. 1931. S. 193, 195; and: Nippon Nogei Kagaku Kaishi. Vol. 6. No. 69. p. 525—537. — (4) Hoyers system. Dtsch. Essig-Industr. 1899. Nr. 1. — (5) Takahashi and Asai, Nippon Nogei Kagaku Kaishi. Vol. VI. No. 66. 1930. p. 235; and: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1930. S. 400.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der „Mikrobakterien" Orla-Jensen.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Kiel. Direktor Prof. Dr. W. Henneberg.]

Von **Anna Wittern.**

Mit 12 Abbildungen im Text.

A. Einleitung.

Der Name „Mikrobakterien" wurde von Orla-Jensen für eine Gruppe von Bakterien gewählt, die, wie der Name sagt, durch ihre geringe Größe auffallen. In der Arbeit „The lactic acid bacteria" 1919 (13) wurden sie näher beschrieben. Auf Grund ihrer Eigenschaften werden sie von Orla-Jensen als „Pseudo-Milchsäurebakterien" bezeichnet, sind also sehr nahe Verwandte der Milchsäurebakterien. Physiologisch stehen sie den Tetrakokken am nächsten. Die Mikrobakterien und Tetrakokken „markieren die Grenze der Milchsäurebakterien nach einer Seite hin, wie die Coli- und Aëregenesbakterien nach der anderen Seite". In der gesamten Literatur bestehen außer der oben erwähnten Arbeit über Mikrobakterien nur wenige Angaben; kurz erwähnt werden sie von Seibel 1927 (29) und A. H. Robertson 1927 (25); außerdem werden von Weigmann 1908 (32) und 1916 (33) „resistente Kurzstäbchen" beschrieben, welche anscheinend dem Typus der Mikrobakterien entsprechen. Allen diesen Verfassern waren die Mikrobakterien dadurch aufgefallen, daß sie die Dauer- bzw. Hochpasteurisation der Milch überlebten, denn diese Eigenschaft, gegen Temperaturen bis zu 85° resistent zu sein, ist nur wenigen nicht sporenbildenden Bakterien eigen.

Diese Eigenschaft machte die Mikrobakterien interessant für die Milchwirtschaft; sie auf ihre nützlichen oder schädlichen Wirkungen hin kennenzulernen sollte die Hauptaufgabe der folgenden Untersuchungen sein. Auch soll die Morphologie, da sie zur Zeit im Mittelpunkt des Interesses steht, für die Mikrobakterien eingehend studiert werden.

Charakteristik der Mikrobakterien.

Auf Grund der Arbeit von Orla-Jensen (13) gilt für die ganze Gruppe der Mikrobakterien folgende Charakteristik: Es sind sehr kleine, unbewegliche, grampositive Stäbchen ohne Sporenbildungsvermögen. Sie reduzieren meist Nitrate zu Nitriten, spalten Wasserstoffsuperoxyd und vergären Dextrose zu Milchsäure. Laktose wird nur sehr schwach oder gar nicht gespalten, ebenfalls werden Alkohole (außer Mannit) und Pentosen nie angegriffen. Auf Grund besonderer Merkmale teilte Orla-Jensen die Mikrobakterien in drei gut voneinander unterscheidbare Arten ein: Mbm. lacticum, Mbm. flavum und Mbm. mesentericum. Das erstere wurde so benannt, weil es oft in Milch vorkommt, Mbm. flavum hat seinen Namen infolge der gelben Farbstoffbildung und Mbm. mesentericum nach dem krausen Oberflächenwachstum. Die Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen ist bei allen drei Arten größer, als man es bei nicht sporenbildenden Stäbchen gewohnt ist. Mbm. lacticum zeichnet sich hier besonders aus, es verträgt oft eine Temperatur von 85°, 80° wird ¼ Std. lang vertragen und 62,8° nach Robertson (25) 4—5 Tage lang. Mbm. flavum ist nicht ganz so hitzefest, bleibt aber meist bei 80° noch lebend, Mbm. mesentericum wird bei 70° abgetötet.

Herrn Prof. Orla-Jensen, Kopenhagen, bin ich für die Übersendung seiner Kulturen zu großem Dank verpflichtet. Bei allen Versuchen wurden diese zum Vergleich herangezogen.

B. Eigene Untersuchungen.

I. Isolation und Vorkommen.

Nach Orla-Jensen kommt Mbm. lacticum in menschlichen Fäkalien, Kuhdung, Kälberdung, hochpasteurisierter Milch und in Käse vor, Mbm. flavum in Milch, Käse und Fäkalien, Mbm. mesentericum ebenfalls in Milch, Käse, Fäkalien und auf Rübenblättern. Seibel (29) und Robertson (25) fanden Mbm. lacticum in dauerpasteurisierter Milch. Die genannten Verfasser nutzten bei der Isolation die Eigenschaft der Hitzebeständigkeit aus, das zu untersuchende Material wurde nach Erhitzung auf Agarplatten ausgestrichen. Es wurde zunächst auf diese Weise zu isolieren versucht.

1. Isolation aus Milch.

a) Isolation aus hochpasteurisierter Milch.

Untersucht wurde Flaschenmilch vom Milchhof Kiel und Milch von Landleuten (aus dem Kreise Rendsburg). Die Milch wurde in Reagenzgläsern im Wasserbad auf 80° 5 Min. erhitzt. Der obere Teil des Reagenzglases mußte vorher stark abgeflammt werden, um die daran haftenden Keime zu töten. Von den Milchproben wurde dann in verschiedenen Verdünnungen sofort auf Chinablau-Milchzuckeragarplatten ausgestrichen. Die Petrischalen mußten 3—4 Tage bei 30° stehen. Oftmals war nach dieser Zeit eine große Zahl von Kolonien des Mbm. lacticum auf den Platten gewachsen, meistens aber war die Untersuchung erfolglos. Mbm. lacticum bildet zuerst glasige, kleine Kolonien, die nach etwa 5 Tagen meist grauweiß werden und Milchzucker schwach säuern. Als Konkurrenten kommen bei der Erhitzung nur Sporenbildner in Frage, deren Kolonien oft ein zum Ver-

wechseln ähnliches Aussehen zeigen. Eine mikroskopische Untersuchung war unerläßlich, ergab sie kleine, auffallend dünne, Gram-positive Stäbchen, so konnte man auf Mbm. lacticum schließen. Die Häufigkeit des Vorkommens in hochpasteurisierter Milch in Zahlen anzugeben, ist nicht möglich. Robertson (25) stellte in 5 von 60 Milchproben ein positives Vorkommen fest. In meinem Versuch wurde in 12 von 30 untersuchten Milchproben Mbm. lacticum gefunden, also in etwa 40% aller untersuchten Milch.

Mbm. flavum und mesentericum waren in hochpasteurisierter Milch nicht zu erwarten, da sie die Temperaturen nicht vertragen.

b) Isolation aus dauerpasteurisierter Milch.

Untersucht wurde Flaschenmilch der Versuchs- und Lehrmeierei Kiel, außerdem Milch von Landleuten aus dem Kreise Rendsburg. Die Milch wurde in Reagenzgläsern im Wasserbad auf 60° 5 Min. und 75° 1 Min. erhitzt. Es wurde wiederum in verschiedenen Verdünnungen auf Milchzucker-Chinablauagarplatten ausgestrichen und 3 Tage bei 30° bebrütet. Auf den Platten waren, besonders bei der Flaschenmilch und der auf 60° erhitzten, zahlreiche, ganz verschieden aussehende, darunter viele farbige Kolonien gewachsen. Mbm. flavum ist an der zitronengelben Farbe zu erkennen, die Kolonien sind meist nur 1—2 mm groß. Es muß an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß sie makroskopisch und auch bei oberflächlicher mikroskopischer Beobachtung leicht mit farbstoffbildenden Corynebakterien verwechselt werden können. Da Mbm. flavum Milchzucker gar nicht oder nur sehr schwach säuert, ist es unnötig, die Kolonien mit blauem Hof mikroskopisch zu untersuchen. Außerdem stellte sich während der Untersuchung heraus, daß die Kolonien von Mbm. flavum sich immer auf der Platte als Ganzes hin und her schieben lassen. Diese kleinen Merkmale sind vorteilhaft bei der Isolation, weil oft viele gelbe Kolonien wachsen, welche alle zu mikroskopieren sehr mühsam ist. Das Resultat der Untersuchungen von dauerpasteurisierter Milch ergab, daß Mbm. flavum sehr selten gefunden wurde. Von 15 untersuchten Proben wurden auf diese Weise nur 3 Kolonien als Mbm. flavum identifiziert. Mbm. mesentericum wurde niemals gefunden, man hätte diese Bakterien an den Kolonien mit krauser Oberfläche leicht erkannt.

2. Isolation aus Fäkalien.

Da nach Orla-Jensen Mbm. lacticum ein Fäzesbakterium ist und auch die beiden anderen Arten im Kot vorkommen, wurden menschliche und Kuhfäkalien zu verschiedenen Jahreszeiten untersucht, wiederum nach obiger Erhitzungsmethode. Aus im ganzen 10 untersuchten Proben konnten nur 2 Kolonien Mbm. lacticum, 1 Kolonie Mbm. flavum und gar kein Mbm. mesentericum isoliert werden.

3. Isolation aus Kuhstalluft.

In den Monaten August bis Dezember wurden in 3 verschiedenen Kuhställen Petrischalen mit Milchzucker-Chinablauagar und mit Dextrin-Chinablauagar je 1, 2 und 3 Min. geöffnet. Dextrin wird von Mbn. gut gesäuert. Nach 4 tägiger Bebrütung wurden von den Dextrinplatten die dunkelblauen Kolonien, von den Milchzuckerplatten die hellblauen Kolonien mikro-

skopiert. Der Erfolg waren 2 Kolonien Mbm. lacticum und 3 Kolonien Mbm. flavum im August und September.

4. Isolation durch Anreicherungsverfahren.

Nach den bisherigen Untersuchungen mußte das Auffinden von Mbn. fast als Zufall bezeichnet werden, es war demnach nötig, mit Hilfe einer Anreicherungsmethode die Isolation zu versuchen. Zunächst wurde auch in diesem Fall erhitzt. Nach der Erhitzung blieben als Konkurrenten für Mbm. lacticum nur Sporenbildner; für Mbm. flavum und mesentericum außerdem Kokken, Streptobakterien, Corynebakterien und andere. Es galt, diese im Wachstum möglichst zu unterdrücken, andererseits das Wachstum der Mbn. aufs günstigste zu beeinflussen.

a) Anreicherungsmethode für Mbm. lacticum.

Die Säureempfindlichkeit der Sporenbildner konnte nicht ausgenutzt werden, da auch Mbm. lacticum sehr empfindlich gegen Säure ist. Folgende Methode war am geeignetsten:

Die zu untersuchenden Proben im Wasserbad auf 80° 5 Min. lang in Bouillon + Kaseinpepton erhitzen. (Reichliches Material ist vorteilhaft; von Gras wurden etwa 20 g für 60 ccm Lösung genommen, von festen Proben etwa 1—2 g auf 20 ccm Lösung; Milch wurde mit Bouillon 1 : 1 verdünnt.) 1—2% Lävulose + $CaCO_3$ zusetzen, das Ganze 5—8 Tage bei Zimmertemperatur stehen lassen, vom Bodensatz in verschiedenen Verdünnungen auf Chinablau-Milchzuckeragarplatten ausstreichen. (Ziemlich trockene Platten.) Nach 2—3 tägiger Bebrütung bei 30° die schwach blauen, kleinen Kolonien mikroskopisch untersuchen.

Auch durch Erhitzen und Stehenlassen in Leberbouillon oder Maische + $CaCO_3$ gelang die Anreicherung.

b) Anreicherungsmethode für Mbm. flavum.

Bei der Isolation von Mbm. flavum wurde die Resistenz gegen hohe Kochsalzkonzentrationen ausgenutzt. Bei 5% NaCl-Zusatz wird schon das Wachstum vieler Bakterien gehemmt. Das zu untersuchende Material im Wasserbad auf 63° 5 Min. lang in Bouillon erhitzen (reichlich Material), 1—2% Lävulose, $CaCO_3$ + 5% NaCl zusetzen, etwa 8 Tage bei Zimmertemperatur oder bei 30° stehen lassen, entweder hierauf oder nach nochmaligem Überimpfen in obige Lösung in verschiedenen Verdünnungen auf Bouillonagarplatten (oder Chinablau-Milchzuckeragar) ausstreichen, 3—4 Tage bei 30° bebrüten, dann Mikroskopieren der gelben (nicht säuernden) Kolonien.

Auch durch Anwenden von Leberbouillon + NaCl oder Maische + $CaCO_3$ + NaCl konnte angereichert werden.

c) Anreicherungsmethode für Mbm. mesentericum.

Mbm. mesentericum zeigte nur eine Eigenschaft, durch die es sich von den oben aufgezählten Konkurrenten so unterschied, daß eine Anreicherung möglich werden konnte, nämlich die, daß es Petroleum als C-Quelle auszunutzen imstande war. Söhngen (30) beschrieb für Mycobakterien eine Isolationsmethode, bei der er eine anorganische Nährlösung + Paraffin, Petroleum oder Benzin als C-Quelle anwandte. Auf dieser anorganischen Nährlösung nach Söhngen wuchs Mbm. mesentericum nur schwach, es wurde deshalb etwa 0,5% Harnstoff als N-Quelle zugesetzt.

Das zu untersuchende Material wurde auf 63° 5 Min. erhitzt und in der Nährlösung 8 Tage bei 30° bebrütet.

H_2O	100 ccm	$CaCO_3$ . . .	etwa 0,5 g
K_2HPO_4 . .	0,05 g	Petroleum	1,0 „
NH_4Cl . . .	0,05 „	Harnstoff	0,5 „

Ausgestrichen wurde auf Agarplatten von derselben Zusammensetzung. Nur 2 mal gelang es, von 10 Proben 2 Kolonien aus Kuhfäzes zu isolieren. Wie aus späteren Versuchen hervorgeht, hat das seltene Auffinden von Mbm. mesentericum wahrscheinlich einen anderen Grund; es wird noch darauf zurückzukommen sein.

Bei Anwendung der Anreicherungsmethode hatte man den Vorteil, daß eine größere Anzahl von Mbn.-Kolonien auf den Platten wuchsen, sofern sie überhaupt in dem zu untersuchenden Material vorhanden gewesen waren, dies war allerdings selten der Fall, obgleich je 10—12 mal Milch, Käse, Fäkalien, Gras, Heu und Stroh mit den Anreicherungsmethoden untersucht wurden. Anscheinend hängt das Vorkommen auch von der Jahreszeit und den Witterungsverhältnissen ab, denn auf Grund der Isolationsversuche ist anzunehmen, daß die Mbn. von Gräsern in die Milch und in den Kuhdarm gelangen. Proben von Wiesen- und Weidegräsern wurden in der Zeit von März bis Dezember monatlich untersucht. Von Mai bis Oktober konnten sowohl Mbm. lacticum wie Mbm. flavum isoliert werden, und zwar Mbm. lact. durchschnittlich in 40—60% der untersuchten Proben, Mbm. flavum in etwa 28%. Es ist möglich, daß die von Weigmann (32) häufig in Weidemilch gefundenen indifferenten, gelben Kurzstabchen auch Mbm. flavum waren, doch 1916 war der Name noch nicht geprägt.

Fur die folgenden Untersuchungen wurden 28 Stämme Mbm. lact., 26 Stämme Mbm. flavum, 2 Stämme Mbm. mesentericum isoliert und zwecks Reinzüchtung 3 mal durch Platten geschickt. Die Stämme wurden auf Bouillon-Schrägagar bei kühler Temperatur aufbewahrt und alle 2 Monate neu übergeimpft. Nicht jede Untersuchung wurde mit allen 57 Stämmen ausgeführt, sondern meist je 10 von verschiedener Herkunft ausgewählt; ergaben diese voneinander abweichende Resultate, dann wurden noch andere Stämme zur Kontrolle herangezogen. Heißt es in folgenden Versuchen: „12 bzw. 10 Stämme wurden geprüft", so waren dies für

Mbm. lacticum: aus Milch 11, 17, (18), von Gras 122, 123; aus Butter 103, aus Fäkalien 40, 41; aus Originalkulturen Orla-Jensen 3, (4), 5, 16.

Mbm. flavum: aus Milch 4, 5, aus Käse 51, 56, 57, aus Fäkalien 61, 63, Kuhstalluft 105; Originalstämme Orla-Jensen 8, 9.

Mbm. mesentericum: aus Fäkalien 90, 91, Originalstamm 7.

II. Die Mbn. in Beziehung zu einigen Begleitorganismen.

Aus den Isolationsversuchen wurde der Schluß gezogen, daß Mbn. an den untersuchten Orten selten vorkommen. Dies kann daran liegen, daß sie hier nicht die günstigsten Bedingungen vorfanden und sich im Verhältnis zu den Begleitorganismen sehr langsam vermehrten, oder daß die mit ihnen zusammenlebenden Bakterien sie am Aufkommen verhinderten, sei es durch Entstehung von schädlichen Stoffwechselprodukten oder durch Änderung der Reaktion durch Säure- oder Alkalibildung. In folgenden Versuchen wurden einige Stämme der Mikrobakterien mit 4 ihrer häufigsten

Begleitorganismen unter verschiedenen Bedingungen zusammen geimpft und ihr Wachstum beobachtet. Folgende Stämme wurden verwandt:

Mbm. lacticum 17, 41, 122.
Mbm. flavum 2, 61, 8.
Mbm. mesentericum 90, 91, 7.
Von den häufigsten Begleitorganismen wurden isoliert:
Str. lactis aus Milch.
Str. faecium aus menschlichen Fäkalien.
Sporenbildner aus Milch, zur Subtilis-Gruppe gehörend.
Sporenbildner aus Kuhkot, zur Mesentericus-Gruppe gehörend.

Im 1. Versuch wurde nach der sehr einfachen Methode von Garrè (8) verfahren. Garrè impfte die zwei zu untersuchenden Stämme gekreuzt oder in parallelen Strichen auf Agarplatten und beobachtete Wachstumsförderung bzw. -Hemmung auf den Strichen. Es mußte natürlich das Bestreben sein, für jeden der angewandten Stämme möglichst gleichmäßig günstige Bedingungen zu schaffen. Als Nährboden wurde einmal Milchzuckerbouillonagar und einmal Bouillonagar gewählt, die Temperatur betrug 30°, alle Stämme waren 2 Tage alt. Bei den Impfungen in parallelen Strichen wurde jeder Mikrobakterienstamm sowohl in einer Entfernung von ½ cm wie auch von 3 cm von dem betr. Symbionten geimpft. Schon nach 2 Tagen waren alle Striche, sowohl die gekreuzten wie die parallelen, gut gewachsen, sie unterschieden sich in keiner Weise von denen auf der Kontrollplatte. Auch im Kreuzungspunkt und in der Nähe desselben war nichts Auffallendes zu bemerken, ebenso war der bei Parallelimpfung 3 cm von dem betreffenden Symbionten entfernte Strich genau so gewachsen wie der ½ cm entfernte. Eine Wachstumshemmung war also nach diesem Versuch nirgends nachzuweisen. Doch blieb die Frage offen, ob nach längerem, unmittelbarem Zusammenleben mit einem der Symbionten die Mikrobakterien im Wachstum geschwächt oder sogar abgetötet werden können.

Bei dem 2. Versuch wurden Mbn. + Symbionten zusammen in flüssige Nährböden geimpft. Angewandt wurde Bouillon und bei den Säurebildnern Str. lactis und Str. faecium außerdem Milchzuckerbouillon, um evtl. eine schädliche Wirkung durch Säure festzustellen. Geimpft wurde mit 2 Tage alten Kulturen aus Bouillon. Nach 1, 2, 3, 8, 21 Tagen Bebrütung wurden die Reagenzgläser zwecks möglichst gleichmäßiger Verteilung der Bakterien 2 Min. lang kräftig geschüttelt, und dann eine kleine Öse mit einem Spatel auf Agarplatten ausgestrichen. Nach 8 Tagen wurden die gewachsenen Kolonien ausgezählt. Es ist selbstverständlich, daß der Versuch nicht als exakter Zahlenversuch gelten soll.

Tab. 1. Mbm. lacticum mit Str. lactis.

Stamm	In Bouillon geimpft				In Milchzucker-B. geimpft				
	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen								
	1	2	3	8	1	2	3	8 Tage	
17	0	0	10	49	0	0	3	0	ph 3,90
Str. lactis . .	20	31	78	80	98	123	17	0	
41	0	3	24	52	0	0	12	0	
Str. lactis . .	37	45	111	96	105	88	5	0	ph 3,98
122	0	1	38	71	0	0	0	0	
Str. lactis . .	17	48	97	90	141	148	97	0	ph 3,73

Tab. 2. Mbm. lacticum mit Str. faecium.

Stamm	In Bouillon geimpft				In Milchzucker-B. geimpft				
	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen								
	1	2	3	8	1	2	3	8	21 Tage
17	0	2	18	46	0	0	0	21	ph 4,41
Str. faecium .	10	29	39	48	35	58	49	3	ph 3,95
41	0	0	32	29	0	0	10	3	0
Str. faecium .	5	51	68	67	68	81	79	98	ph 4,31
122	0	5	57	61	0	0	0	0	0
Str. faecium .	18	31	72	69	96	65	99	19	0

Tab. 3. Mbm. lacticum mit Sporenbildner aus Milch.

Stamm	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen				
	1	2	3	8	21 Tage
17.	0	0	10	73	55
Sp. B.	48	57	68	15	30
41.	0	28	33	51	34
Sp. B.	101	21	32	16	25
122	0	4	6	16	23
Sp. B.	77	24	81	42	58

Tab. 4. Mbm. lacticum mit Sporenbildner aus Kuhkot.

Stamm	In Bouillon geimpft Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen				
	1	2	3	8	21 Tage
17.	0	0	13	42	36
Sp. B.	72	83	77	101	57
41.	0	2	29	34	48
Sp. B.	43	91	85	48	67
122	0	0	8	12	16
Sp. B.	73	48	101	89	94

Die Plattenausstriche der Kontrollröhrchen, welche nur mit Mbm. lacticum beimpft worden waren, zeigten am 2. Tage ein Wachstum von etwa 24—40 Kolonien auf jeder Platte.

Vergleicht man das Wachstum dieser Kontrollplatten mit den Zahlen der Tab. 1—4, so ist aus Tab. 1 und 2 ersichtlich, daß Mbm. lacticum in den Milchzucker-Bouillonröhrchen nicht gewachsen war, daß also der entstandenen Säure eine hemmende Wirkung auf das Wachstum von Mbm. lacticum zuzuschreiben ist. Aus Tab. 3 und 4 geht hervor, daß die Sporenbildner das Wachstum von Mbm. lacticum weder schädlich noch günstig beeinflußten.

Um den ph festzustellen, bei welchem noch Wachstum von Mbm. lacticum eintreten kann, wurden 10 Stämme in Bouillon + Milchsäurezusatz geimpft; die Stämme wuchsen bei ph 6,6 nur noch in Spuren.

An Standorten, welche einen kleineren ph als 6,6 zeigten, ist demnach keine Entwicklung von Mbm. lacticum möglich.

Morphologisch wurde Mbm. lacticum weder durch die Säure noch durch die Stoffwechselprodukte eines der beigeimpften Bak-

terien beeinflußt. Klatschpräparate der Kolonien auf den verschiedenen Platten zeigten nur die typischen dünnen, kleinen Stäbchen.

Tab. 5. M b m. f l a v u m mit S t r. l a c t i s.

Stamm	In Bouillon geimpft					In Milchzucker-B. geimpft			
	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen								
	1	2	3	8	21	1	2	3	8 Tage
8	0	0	0	70	26	0	0	0	0
Str. l.	24	58	47	76	28	72	83	103	0
2	0	0	12	61	54	0	0	7	3
Str. l.	13	21	33	68	32	85	97	89	29
61.	0	8	9	11	21	1	0	0	0
Str. l.	38	20	45	24	30	67	78	55	0

Tab. 6. M b m. f l a v u m mit S t r. f a e c i u m.

Stamm	In Bouillon geimpft					In Milchzucker-B. geimpft				
	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen									
	1	2	3	8	21	1	2	3	8	21 Tage
8.	0	0	12	12	0	0	0	0	0	0
Str. f.	18	38	36	17	77	108	120	18	17	11
2.	0	6	49	56	78	0	2	2	0	0
Str. f.	51	37	78	113	83	98	87	26	11	0
61	0	12	27	6	18	12	14	11	3	1
Str. f.	29	31	35	13	24	113	125	65	44	10

Tab. 7. M b m. f l a v u m mit Sporenbildner aus Milch.

Stamm	In Bouillon geimpft Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen				
	1	2	3	8	21 Tage
8	0	40	31	25	28
Sp. B.	63	5	46	40	37
2	0	9	78	56	45
Sp. B.	83	9	24	32	71
61.	0	46	33	15	77
Sp. B.	43	58	78	98	38

Tab. 8. M b m. f l a v u m mit Sporenbildner aus Kuhkot.

Stamm	In Bouillon geimpft Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen				
	1	2	3	8	21 Tage
8	0	8	36	51	83
Sp. B.	41	30	53	134	62
2	0	13	42	80	87
Sp. B.	77	61	80	112	40
61.	0	21	39	13	20
Sp. B.	59	102	99	91	10

M b m. f l a v u m verhielt sich ähnlich wie M b m. l a c t. In Bouillonröhrchen ohne Zucker wuchs es sehr gut in Gegenwart der Säurebildner,

in Milchzuckerbouillon dagegen wenig. Mit den 2 Sporenbildnern zusammen geimpft, zeigte es ebenfalls gute Vermehrung. Um zu prüfen, bei welchem ph noch Wachstum von Mbm. flavum stattfindet, wurden 10 Stämme in Bouillon + Milchsäurezusatz geimpft und bebrütet. Bei ph 4,8 wuchsen diese Stämme noch, bei ph 4,4 nicht mehr. Sie sind also lange nicht so säureempfindlich wie Mbm. lact. Betreffs der Kolonien von Mbm. flavum fiel auf, daß die sonst zitronengelbe Farbe in Gegenwart der Sporenbildner bei allen 3 Stämmen dunkel dottergelb geworden war, die Kolonien waren auffallend klein, zum Teil wie die „pin-point colonies" der Amerikaner (35). Morphologisch interessant war, daß alle 3 Stämme in Gegenwart der Sporenbildner als besonders kurze und dünne Stäbchen auftraten und fast wie kleine Kokken aussahen. Bei Gegenwart von Str. lactis und Str. faecium dagegen zeigten sich Stäbchen von verschiedener Länge und meist kolbig geschwollen.

Tab. 9. Mbm. mesentericum mit Str. lactis.

Stamm	In Bouillon geimpft				In Milchzucker-B. geimpft			
	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen							
	1	2	3	8	1	2	3	8 Tage
7	5	48	39	37	0	0	0	0
Str. l.	52	40	33	48	81	123	97	0
90.	2	19	35	30	0	0	0	0
Str. l.	18	16	37	61	83	91	48	0

Tab. 10. Mbm. mesentericum mit Str. faecium.

Stamm	In Bouillon geimpft				In Milchzucker-B. geimpft			
	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen							
	1	2	3	8	1	2	3	8	21 Tage
7	0	17	38	36	2	0	0	0	0
Str. f.	80	49	26	101	96	80	73	38	0
90.	1	29	72	63	0	3	0	0	0
Str. f.	50	21	48	61	62	53	81	24	0

Tab. 11. Mbm. mesentericum mit Sporenbildnern aus Milch und Kuhkot.

Stamm	In Bouillon geimpft							
	Sp. B. aus Milch				Sp. B. aus Kuhkot			
	Zahl der gewachsenen Kolonien, ausgestrichen nach Tagen							
	1	2	3	8	1	2	3	8 Tage
7	3	11	18	10	28	23	25	31
Sp. B.	26	83	77	68	41	68	82	90
90.	0	19	32	25	12	19	24	48
Sp. B.	18	34	68	57	38	72	44	58

Auch die Stämme von Mbm. mes. waren säureempfindlich; in allen Bouillonröhrchen ohne Zucker vermehrten sie sich in Gegenwart der 4 Symbionten gut. In einem Parallelversuch, der die Säureempfind-

lichkeit der Stämme feststellen sollte, wurde gefunden, daß bei ph 5,8 nur noch Wachstum in Spuren stattfand.

Klatschpräparate der Mbm. mes.-Kolonien von den verschiedenen Platten zeigten die Fadenform, dazwischen kokkenähnliche Formen.

III. Kulturelles Verhalten der Mikrobakterien auf den gebräuchlichsten Nährböden.

Da eine eingehende Beschreibung über das kulturelle Verhalten der Mbn. (Koloniebildung usw.) nicht vorliegt, soll es an dieser Stelle geschehen.

1. Mbm. lacticum.

Feste Nährböden. Temp. 30°.

a) Bouillonagar (Fleischextrakt-Peptonagar, ph 7,2—7,4). Bei frisch isolierten Stämmen wuchsen die Kolonien bei 30° erst nach 3 Tagen. Die Kolonien sind dann punktförmig, glasig durchscheinend, nicht fluoreszierend, rund, erhaben, mit glattem Rand und glatter, feuchter Oberfläche. Sie sind von weicher Konsistenz und fein amorpher Struktur. Nach 6—8 Tagen nimmt meist die Durchsichtigkeit ab, die Kolonien sind dann grauweiß oder haben einen Stich ins Schwefelgelbe. Die Größe beträgt 1—1,5 mm im Durchmesser. Das Wachstum auf Agarstrichkulturen ist von dem der Oberflächenkolonien nicht wesentlich verschieden, es beginnt am 2. Tag. Die Auflage bleibt mittelstark, durchsichtig oder von grauweißer Farbe. Manche Stämme zeigen einen Stich ins Gelbgrüne. Der Impfstrich verbreitert sich wenig.

b) Traubenzucker-Bouillonagar (2%). Wie auf Bouillonagar, auch wurde das Wachstum nicht gefördert.

c) Milchzucker-Bouillonagar (2%). Wie auf Traubenzuckeragar.

d) Würzeagar, ph 7,2. Wie auf Bouillonagar. Das Wachstum trat einen Tag später ein.

e) Kuntzeagar. Wie auf Bouillonagar.

f) Milchagar. Der Nährboden bestand aus Wasseragar + Magermilch im Verhältnis 1 : 1. Das Wachstum war weniger üppig als auf den anderen Nährböden. Das Aussehen des Impfstriches wie auf Bouillonagar, doch bei manchen Stämmen zitronengelb.

g) Kartoffel. Das Wachstum des Striches war bei den meisten Stämmen noch nach 8—14 Tagen spärlich, bei manchen von zitronengelber Farbe. Die Oberfläche war matt, oft rauh.

h) Bouillon-Gelatine. Wie auf Bouillonagar. Verflüssigung negativ.

i) Kasein-Peptonagar. Schon nach einem Tage üppiges Wachstum, Aussehen wie auf Bouillonagar.

Flüssige Nährböden. Temp. 30°.

a) Bouillon ph 7,2—7,4. Erst nach 2 Tagen geringes Wachstum, Bodensatz. Nach etwa 5 Tagen mittelstarker Bodensatz von weißer Farbe, beim Schütteln von fadenziehender Konsistenz. Kein Oberflächenwachstum. Die Nährlösung war sehr schwach oder nicht getrübt.

b) Traubenzuckerbouillon. Wachstum wie in Bouillon, jedoch kein fadenziehender, sondern flockiger Bodensatz.

c) Peptonwasser. Wie in Bouillon, beginnendes Wachstum erst nach 4—5 Tagen.

d) Leberbouillon (s. Henneberg, Bd. 1) (11). Wachstum wie in Bouillon, oft grauer bis schwach gelber Ring an der Oberfläche. Konsistenz flockig.

e) Würze (sauer). Kein Wachstum.

„Pin-point colonies" (35).

Nach Robertson (25) tritt Mbm. lact. in „pin-point colonies" auf. Diese Erscheinung konnte auch für verschiedene der hier isolierten Stämme auf Bouillonagar beobachtet werden, auch für den Originalstamm 3. Kolonien werden von den Amerikanern als pin-point bezeichnet, wenn sie dem bloßen Auge gerade noch sichtbar sind. Nach Ayers (2) ist diese Erscheinung der Entwicklungsbeschränkung durch Überfüllung zuzuschreiben; auch die Reaktion des Nährbodens kann zu dieser Entwicklung beitragen. Klatschpräparate dieser winzig kleinen Kolonien von Mbm. lact. zeigten dieselbe Form der Bakterien wie die normalen Kolonien.

2. Mbm. flavum.

Feste Nährböden. Temp. 30°.

a) Bouillonagar. Die Kolonien erschienen bei frisch isolierten Stämmen erst nach 3—4 Tagen, bei längerer Kulturdauer nach 2 Tagen. Die Farbe war zitronengelb. Die Größe der Kolonien war nach 4 Tagen etwa 1 mm Durchmesser und nach 8 Tagen bei einzeln liegenden Kolonien 2—3 mm Durchmesser. Die Form war rund, der Rand glatt, die Oberfläche eben und feucht, die Struktur fein amorph, der Geruch fehlt. Die Kolonien ließen sich als Ganzes auf der Platte hin- und herschieben. Die Konsistenz war weich. Das Wachstum auf Strichkultur ist von dem der Oberflächenkolonien nicht wesentlich verschieden, der Impfstrich verbreitert sich wenig, die Auflage ist kräftig, der Rand schwach gewellt.

b) Traubenzuckeragar. Wachstum wie auf Bouillonagar.

c) Milchzucker-Bouillonagar. Wachstum wie auf Bouillonagar.

d) Würzeagar, ph 7,2. Wachstum nicht so kräftig wie auf Bouillonagar, meist keine Farbstoffbildung, der Strich war grau.

e) Kuntzeagar. Wachstum wie auf Bouillonagar.

f) Milchagar. Wachstum nicht so kräftig wie auf Bouillonagar und meist verzögert. Die Farbe der Auflage ist entweder mattgelb, gelbgrün oder weiß.

g) Kartoffel. Wachstum wie auf Bouillonagar. Die Farbe war kräftig zitronengelb, die Oberfläche matt und rauh.

h) Bouillongelatine. Wachstum wie auf Bouillonagar, jedoch war die Farbe meist gelbgrün, die Struktur grob amorph.

i) Kasein-Peptonagar. Besonders üppiges Wachstum.

Flüssige Nährböden. Temp. 30°.

a) Bouillon. Erst am 2. Tage geringer weißer Bodensatz, schwache Trübung, vom 3. Tage ab kräftiger gelber Bodensatz, Lösung klar. Konsistenz flockig oder fadenziehend. Nie Haut- oder Ringbildung.

b) Traubenzuckerbouillon. Wachstum wie in Bouillon.

c) Peptonwasser. Beginn des Wachstums am 5. Tag, wie in Bouillon.

d) Leberbouillon. Schon nach 2 Tagen gutes Wachstum, die Lösung ist klar, oft Ringbildung.

e) Würze (sauer). Schwaches Wachstum.

3. Mbm. mesentericum.

Feste Nährböden. Temp. 30°.

a) Bouillonagar. Temp. 30°. Die Kolonien erschienen am 3. Tage, zunächst grauweiß, rund, 1 mm Durchmesser, später wurde die Form unregelmäßig, die Oberfläche kraus bis gefaltet, der Durchmesser etwa 3 mm. Die Kolonien hafteten fest am Agar, die Struktur war grobkörnig.

b) Traubenzuckeragar. Wie auf Bouillonagar. Das Wachstum des Striches unterscheidet sich im wesentlichen nicht von dem der Kolonien.

c) Milchzucker-Bouillonagar. Wie auf Traubenzuckeragar.

d) Würzeagar, ph 7,2. Wie auf Bouillonagar.

e) Milchagar. Wachstum wie auf Bouillonagar.

f) Kartoffel. Am 4. Tage beginnendes Wachstum, oft zitronengelb, gefaltet, meist aber grau.

g) Bouillongelatine. Wie auf Bouillonagar. Verflüssigung negativ.

Flüssige Nährböden. Temp. 30°.

a) Bouillon. Vom 3. Tage ab gutes Wachstum, der Bodensatz war krümelig, die Lösung klar, nie Hautbildung.

b) Traubenzuckerbouillon. Wie in Bouillon, Bodensatz flockig.

c) Peptonwasser. Am 5. Tag wenig Wachstum, nach 8 Tagen gutes Wachstum, wie in Bouillon.

e) Leberbouillon. Nach 3 Tagen gutes Wachstum, oft weißer Ring, Lösung klar, Konsistenz krümelig.

IV. Physiologische Untersuchungen.

Eine Reihe von physiologischen Merkmalen wurde von Orla-Jensen beschrieben, sie seien hier kurz erwähnt. Orla-Jensen bestimmte die Menge der aus Traubenzucker gebildeten Säure durch Titration; als beste Stickstoffquelle stellte er Kaseinpepton fest, bestimmte die minimalen. optimalen und maximalen Wachstums- sowie die Abtötungstemperaturen. In bezug auf hohe Kochsalzkonzentration sind die Mbn. nicht empfindlich. Mbm. flavum wächst noch sehr gut bei 10,5%, Mbm. lact. und mes. vertragen bis 5,5%. Als besondere Merkmale wurden von Orla-Jensen eine positive NO_3-Reduktion und Katalasebildung gefunden, auch Gelatineverflüssigung war oft positiv, Kaseinzersetzung dagegen meist negativ.

Auf diese physiologischen Merkmale hin wurden von mir alle neu isolierten Stämme geprüft. Die Resultate stimmten mit denen von Orla-

Jensen überein, eine Ausnahme war nur, daß nie Gelatineverflüssigung beobachtet wurde, obgleich die Kulturen 3 Mon. lang zur Beobachtung standen, auch Kaseinzersetzung war nie vorhanden. Die Spaltung von H_2O_2 war auch nach einjähriger Kulturdauer noch ebenso kräftig wie bei den frisch isolierten Stämmen.

An Hitzeresistenz dagegen hatten nach einjähriger Kulturdauer fast alle Stämme verloren. Mbm. lact. vertrug nur noch 75°—80°, Mbm. flav. bis zu 70° und 63° nur noch 5 Min. Betreffs Nitratreduktion muß hinzugefügt werden, daß diese Fähigkeit während der Kulturdauer stark vermindert wurde, ältere Stämme zeigten erst nach 14 Tagen bis 3 Wochen Rosafärbung mit dem Nitritreagens (Sulfanilsäure + α-Naphthylamin), keiner der Stämme hatte Nitrat bis zu NH_3 reduziert. Ausgehend von dem Gedanken, ob vielleicht in anaeroben Kulturen Nitrat stärker reduziert würde, wurden je 10 alte Stämme von Mbm. lact. und flav. und 3 von Mbm. mes. sowohl in Bouillon + KNO_3 wie auch in Bouillon allein geimpft. Die Reagenzgläser wurden bis auf 14—15 mm Druck evakuiert und bebrütet. Nach 8 Tagen wurde auf Nitrit geprüft. Die Färbung mit dem Nitritreagens war tief dunkelrot. Es war also mehr Nitrit vorhanden als unter aeroben Verhältnissen. Das Wachstum in den anaeroben Kulturen war mit KNO_3-Zusatz nicht stärker als ohne dieses, auch war bei denjenigen Stämmen, welche in Bouillon nicht anaerob wachsen konnten, bei Zusatz von Nitrat kein anaerobes Wachstum zu erzielen.

1. Sauerstoffbedürfnis.

Es wurden je 10 Stämme Mbm. lact. und flav., 3 Stämme Mbm. mes. geprüft. Sie wurden in Bouillon geimpft, die Röhrchen bis auf 14—15 mm evakuiert. Im Gegensatz zu Orla-Jensen, dessen Mbm.-Stämme nur aerob wuchsen, hatten hier viele Stämme die Fähigkeit, auch anaerob zu wachsen und zwar 6 Stämme von Mm. lact. und 5 Stämme von Mbm. flav.

2. Ansprüche an Stickstoffquellen.

Ein Vergleich der Verwertbarkeit verschiedener N-Quellen ist am besten möglich, wenn den Organismen dieselbe N-Menge unter sonst gleichen Bedingungen geboten wird. In folgenden Versuchen wurde die N-Menge auf 0,5% N-Gehalt berechnet. Der Nährboden hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl 0,2%, $MgSO_4$ 0,1%, K_2HPO_4 0,2%, $CaCl_2$ 0,2%, Dextrose 1%, N-haltige Substanz berechnet auf 0,5% N, entwässerter Agar.

Geprüft wurden je 10 Stämme Mbm. lact. und flav., 3 Stämme Mbm. mes., Kontrolle am 5. und 10. Tag.

In Übereinstimmung mit Orla-Jensen wurde gefunden, daß auch für diese Stämme Kaseinpepton die beste N-Quelle ist. Schon nach einem Tage war das Wachstum gut. Orla-Jensen benutzte Kasein, welches mit Pepsin + Salzsäure abgebaut war; für obige Versuche wurde sowohl auf diese Weise abgebautes Kasein benutzt, wie auch Milchkasein, welches mit Kahmhefe, Oidium lactis oder Bact. linens abgebaut war. Sobald die Milch durchsichtig geworden war, wurde sie filtriert, neutralisiert und im Dampftopf sterilisiert. Alle 4 Lösungen waren ausgezeichnete N-Quellen.

Tabelle 12.

Stamm	KNO_3	NH_4Cl	Harnstoff	Pepton Witte	Kasein Pepton	Liebig Fl.-Ex.	Glykokoll	Asparagin
				Mbm. lacticum.				
3	—	—	—	++	+++	++	—	—
4	—	—	—	++	+++	++	—	—
5	—	—	—	++	+++	++	—	—
11	—	—	—	+	+++	++	—	—
17	—	—	—	+	+++	++	—	—
41	—	—	+	+	+++	++	—	—
122	—	—	++	++	+++	++	—	—
123	—	—	+	++	+++	++	—	—
				Mbm. mesentericum.				
7	—	—	++	+ +	+++	++	—	—
90	—	—	++	+	+++	++	—	Sp.
91	—	—	++	++	+++	++	—	—
				Mbm. flavum.				
8	—	—	—	++	+++	++	—	—
9	—	—	—	++	+++	++	—	—
4	—	—	—	++	+++	++	—	—
51	—	—	—	+	+++	++	—	—
61	—	—	—	++	+++	++	—	—
56	—	—	—	+	+++	++	—	—
63	—	—	—	++	++	++	—	—
105	—	—	—	+	+++	++	—	—

+++ bedeutet üppiges Wachstum.

3. Wachstum bei verschiedenen Temperaturen.

Die Temperatur ist einer der wichtigsten äußeren Faktoren, von denen das Leben und die Leistungen aller Organismen abhängig sind. Als Leistung der Mbn. interessiert die Säuerungsintensität. Diese wurde von Orla-Jensen für verschiedene Temperaturen geprüft. In folgenden Versuchen sollte das Wachstum auf Bouillonschrägagar bei verschiedenen Temperaturen beobachtet werden.

a) Mbm. lacticum.

5° Kein Wachstum.
14—16° Beginnendes Wachstum am 4. Tag, nach 8 Tagen ganz gutes Wachstum.
19—21° Beginnendes Wachstum am 3. Tag; am 5. Tage ebenso starkes Wachstum wie bei 30° am 2. Tage. Das Aussehen ist dasselbe.
28—30° Beginnendes Wachstum am 2. Tage, gutes Wachstum am 3. Tage. Optimaltemperatur!
37° Nach 8 Tagen bei einigen Stämmen Spur Wachstum, bei einer 2. Passage kein Wachstum mehr.

Nach Orla-Jensen liegt das Säuerungsoptimum bei 30°, ist sehr gering bei 35°, nur in Spuren bei 11—16°, bei 19—21° fast so gut wie bei 30°.

b) Mbm. flavum.

5° Kein Wachstum.
14—16° Beginnendes Wachstum nach 2 Tagen, kräftiges Wachstum erst nach 5 bis 6 Tagen mit auffallend tiefgelber Farbe.
19—21° Beginnendes Wachstum nach 1 Tage, nach 2 Tagen ganz gutes Wachstum, nach 5 Tagen sehr gutes; auch kräftig gelb.

Tabelle 13.

Stamm	Glyzerin	Erythrit	Mannit	Sorbit	Arabinose	Xylose	Dextrose	Mannose	Galaktose	Lävulose
Milch:	Mbm. lacticum.									
11.	+	—	+	+	—	—	++	+	++	++
12.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	+++
13.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	+++
15.	+	—	+	+	+	—	++	+	++	++
17.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	+++
18.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	+++
20.	+	—	+	—	—	—	+++	+	+++	++
Butter:										
30.	—	—	—	—	—	—	++	+	+	+
31.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	++
Gras:										
101	+	—	—	—	—	—	++	—	++	+
112	+	—	+	—	—	—	++	+	++	++
121	+	—	—	—	—	—	++	—	++	+
122	—	—	—	—	—	—	++	+	++	++
123	+	—	—	+	—	—	+++	+	++	++
131	+	—	+	—	—	—	++	++	++	++
Fäkalien:										
40.	—	—	++	—	—	—	+++	++	++	++
41.	—	—	++	—	—	—	+++	++	++	++
49.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	++
Orla-Jensen:										
3.	+	—	+	+	—	—	++	+	++	++
4.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	+++
5.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	+++
16.	+	—	+	—	—	—	++	+	++	++
Milch:	Mbm. flavum.									
1.	—	—	+	—	—	—	++	++	+	+
2.	—	—	+++	—	—	—	++	+	++	+++
3.	—	—	+	—	—	—	++	+	+	+
4.	—	—	—	—	—	—	++	+	++	++
5.	—	—	++	—	—	—	++	+	++	+++
7.	+	—	++	—	—	—	++	+	—	+
Käse:										
50.	—	—	++	—	—	—	++	+	++	+++
51.	—	—	++	—	—	—	++	+	++	+++
54.	—	—	+++	—	—	—	++	+	++	+++
55.	—	—	+	—	—	—	++	+	+	+
56.	—	—	+	—	—	—	++	+	+	+
57.	+	—	+++	—	—	—	++	+	+++	++
59.	—	—	+	—	—	—	+	+	++	+
61.	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+
63.	—	—	+++	—	—	—	++	+	++	++
64.	+	—	++	—	—	—	++	+	++	+
Kuhstall:										
68.	+	—	+	—	—	—	++	—	+	+
70.	—	—	++	—	—	—	++	+	++	+
Fäkalien:										
76.	—	—	+++	—	—	—	++	+	++	++
Orla-Jensen:										
8.	—	—	++	—	—	—	++	+	++	+++
9.	—	—	+++	—	—	—	++	+	++	+++
Orla-Jensen:	Mbm. mesentericum.									
7.	++	—	+	—	+	+	+++	+	++	+++
90.	+	—	++	—	—	+	+++	+	++	++

\+ = Strich schwach gebläut, ohne blauen Hof. ++ = Strich blau, schwach blauer Hof.

Tab. 13 (Fortsetzung).

Stamm	Laktose	Saccharose	Maltose	Raffinose	Stärke	Dextrin	Inulin	Salizin
Milch:			**M b m. l a c t i c u m.**					
11.	+	+	+ +	—	+	+ +	+	—
12.	+	—	+ +	—	+	+ +	+	+ +
13.	+	—	+ +	—	+ +	+ +	+	+
15.	+	+	+ +	—	—	+	+	+ +
17.	+	—	+ +	—	+	+ +	—	+ +
18.	+	—	+ + +	—	+ +	+ +	—	+
20.	+	+	+ +	—	+	+	—	+ +
Butter:								
30.	+	+	+	—	+	+	—	+
31.	+	+	+ +	—	+	+	—	—
Gras:								
101.	+	—	+	—	+	+	—	+
112.	+	—	+	—	+	+	—	—
121.	+	+	+	—	+	+	—	+
122.	+	+	+ +	—	+	+	—	+ +
123.	+	+	+	—	+ +	—	+	+
131.	+	—	+	—	+	+	—	+
Fäkalien:								
40.	+ +	+ +	+	—	+ +	+ +	—	—
41.	+ +	+ +	+ +	—	+	—	—	+
49.	+	+	+	—	+ +	+ +	+	+
Orla-Jensen:								
3.	+	+	+ +	—	+	+ +	+	+ +
4.	+	—	+ +	—	+	+ +	+	+ +
5.	+	—	+	—	+	+ +	—	+ +
16.	+	—	+	—	+	+ +	—	—
Milch:			**M b m. f l a v u m.**					
1.	+	+	+	—	—	—	—	—
2.	+	+	+ +	—	—	—	—	—
3.	—	+	+	—	—	—	—	—
4.	—	—	+	—	—	—	—	—
5.	—	+	+ +	—	—	+	—	—
7.	+	—	+	—	—	—	—	—
Käse:								
50.	—	—	—	—	—	—	—	—
51.	—	—	+	—	—	—	—	—
54.	+	—	—	—	—	—	—	—
55.	—	+	—	—	—	—	—	—
56.	—	—	+	—	—	—	—	—
57.	—	—	+	—	—	—	—	—
59.	—	—	—	—	—	—	—	—
61.	+	—	+	—	—	—	—	—
63.	—	—	—	—	—	—	—	—
64.	—	—	—	—	—	—	—	—
Kuhstall:								
68.	+	—	—	—	—	—	—	—
70.	—	—	—	—	—	—	—	—
Fäkalien:								
76.	—	+	+	—	—	—	—	—
Orla-Jensen:								
8.	—	—	+	—	—	—	—	—
9.	—	+	+ +	—	—	—	—	—
Orla-Jensen:			**M b m. m e s e n t e r i c u m.**					
7.	+	+ +	+	—	+	+ +	—	—
Kuhkot:								
90.	+	+	+	—	+ +	+ +	—	—

+ + + = Strich dunkelblau, dunkelblauer Hof. Kontrolle nach 4 Tagen und 14 Tagen.

28—30° Beginnendes Wachstum nach 1 Tage. Wie bei 19—21°, die Farbe ist mattgelb.
37° Beginnendes Wachstum nach 2 Tagen, gutes Wachstum bei manchen Stämmen am 3. Tage, bei anderen am 5. Tage, nur Stich ins Gelbe. Bei einer 2. Passage war bei den meisten Stämmen das Wachstum negativ, bei einer 3. Passage bei allen negativ.
45° Kein Wachstum.

Nach Orla-Jensen liegt das Säuerungsoptimum bei 30°, ist fast so gut bei 25°, etwas geringer bei 37°, sehr wenig bei 19—21° und in Spuren bei 11—16°.

c) Mbm. mesentericum.

5° Kein Wachstum.
14—16° Beginnendes Wachstum am 3. Tage, kräftiges Wachstum am 5. Tage.
19—21° Beginnendes Wachstum nach 2 Tagen, gutes Wachstum nach 3 Tagen.
28—30° Beginnendes Wachstum nach 1 Tage, gutes Wachstum nach 2 Tagen.
37° Kein Wachstum.

Von Orla-Jensen ist über Säuerungsintensität nichts angegeben.

4. Enzyme der Mikrobakterien.

a) Säurebildung aus Kohlehydraten.

Typisch bei der Säuerung von Zuckern ist für die echten Milchsäurebakterien, daß sie zur Hauptsache Milchsäure bilden. Auch die Mbn. bilden aus Kohlehydraten Milchsäure; alle frisch isolierten Stämme mußten zunächst daraufhin geprüft werden. Nur die Stämme mit positivem Resultat wurden in die Reihe der Untersuchung aufgenommen. Bei Mbm. flavum (Stämme 50, 56, 61) fiel zuerst nach der Isolation ein schwach säuerlicher Geruch auf Traubenzuckeragar auf, der aber nach längerer Kulturdauer nicht mehr wahrgenommen wurde. Teils zur Ergänzung, besonders aber zum Vergleich der selbst isolierten Mbn. mit den Originalstämmen von Orla-Jensen wurden alle Stämme auf ihre Spaltungsfähigkeit von Kohlehydraten und einigen Alkoholen geprüft. Die zu prüfenden Bakterien waren 3 Wochen zuvor isoliert worden, sie wurden noch einmal in Bouillon geimpft und von hier aus nach 3 Tagen auf Chinablaubouillonagar mit Zusatz von 2% der betreffenden Kohlehydrate (Alkohole) ausgestrichen. Temp. 30°.

b) Lipase.

Die Fähigkeit der Mbn., Fett zu spalten, wurde an je 10 Stämmen Mbm. lact. und flavum und 3 Stämmen Mbm. mes. in Vollmilchfederstichen (12) geprüft, beobachtet wurde bei 30° und 17°. Außerdem wurde Chinablau-Bouillonagar mit steriler Butter gemischt und beimpft. Nach 2 Mon. langer Beobachtung war in beiden Fällen keine Fettspaltung festzustellen.

c) Hämolytische Enzyme.

Defibriniertes Hammelblut wurde 2%igem Wasseragar wie auch Bouillonagar beigemischt und mit je 10 Stämmen Mbm. lact. und Mbm. flav., 3 Stämmen Mbm. mes. beimpft. Auf Wasseragar war mäßiges Wachstum und sehr schwache Hämolyse bei den Stämmen 5, 18 und 122. Mbm. flav. und mes. zeigten keine Hämolyse.

d) Reduktase.

Die Reduktaseprobe wurde in Milch + Methylenblau ausgeführt, untersucht wurden je 10 Stämme Mbm. lact. und Mbm. flav., 3 Stämme Mbm. mes. Nach 24 Std. zeigten die Stämme 17 und 20 von Mbm. lact., die Stämme 3 und 61 von Mbm. flavum, die Stämme 7 und 90 von Mbm. mes. schwach positive Reduktase; bei den übrigen Stämmen verlief die Probe negativ.

5. Gasbildung aus Zucker.

Aus Traubenzucker und Milchzucker wurde von keinem Stamm Gas gebildet.

6. Indolbildung

war bei allen Stämmen negativ.

7. Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit.

Von je 10 Stämmen Mbm. lact. und Mbm. flav. (Mbm. mes. wird in einem anderen Zusammenhang angegeben) wurden sehr dünne Ausstriche auf sterile Deckgläser gemacht und diese in sterilen Petrischalen im Exsikkator, der mit Chlorkalzium gefüllt war, aufbewahrt. Nach 1, 2, 3, 4 und 6 Wochen wurde je ein Ausstrich mit Bouillon etwas angefeuchtet und auf eine Bouillonagarplatte gelegt. Nach einem Tage wurde das Deckglas heruntergenommen und die weitere Entwicklung beobachtet.

4 Wochen Trockenheit wurde von allen Stämmen vertragen, nach 6 Wochen waren nur noch Stamm 17, 122 und 49 von Mbm. lact. gewachsen.

8. Fütterungsversuche an weißen Mäusen.

Die Mäuse erhielten neben normaler guter Ernährung (Weißbrot, Körner, Milch) 4 Tage hintereinander Milch, welche mit den zu prüfenden Bakterienstämmen geimpft war. Bei dem ersten Versuch war die Milch seit 5 Tagen beimpft, bei einem 2. Versuch seit 4 Wochen. Geprüft wurden je 10 Stämme Mbm. lact. und Mbm. flav., 3 Stämme Mbm. mes. Die Mäuse veränderten sich nach der Fütterung im Aussehen nicht und benahmen sich in jeder Weise wie gesunde. Sie wurden 3 Wochen lang beobachtet. Für Mäuse war demnach keine Pathogenität vorhanden.

9. Einfluß der Mikrobakterien auf Milch.

a) Mbm. lacticum.

Untersucht wurden 28 Stämme. Sie wurden in Magermilch geimpft. Bei 17 und 30° wurde der Beginn und der Verlauf der Säuerung sowie Geruchs- und Geschmacksveränderung untersucht.

Temperatur: 17°. Nach 1 Tage: nirgends Veränderung. Nach 2 Tagen: nirgends Veränderung. Nach 3 Tagen: 5 Stämme beim Kochen schwach geronnen, die anderen Stämme unverändert. Nach 5 Tagen: 4 Stämme mit dickem Bodensatz; 2 Stämme

geronnen; 18 Stämme beim Kochen schwach geronnen; Geschmack bei allen schwach säuerlich; 4 Stämme waren unverändert. Nach 14 Tagen: 13 Stämme geronnen, z. T. Molke abgeschieden, Geruch schwach sauer; 15 Stämme äußerlich unverändert, teilweise beim Kochen schwach geronnen. Nach 21 Tagen: 15 Stämme geronnen; die übrigen beim Kochen geronnen. Nach 4 Wochen und 2 Monaten: keine weitere Veränderung.

Temperatur: 30°. Nach 1 Tage: nirgends Veränderung. Nach 2 Tagen: der Geschmack bei 18 Stämmen war eine Spur sauer, beim Kochen nicht geronnen; 10 Stämme unverändert. Nach 3 Tagen: 23 Stämme beim Kochen schwach geronnen, Geschmack schwach säuerlich; 5 Stämme unverändert. Nach 5 Tagen: 4 Stämme mit dickem Bodensatz; 4 Stämme geronnen; 12 Stämme beim Kochen geronnen; 8 Stämme beim Kochen nicht geronnen, doch mit schwach-saurem Geschmack. Nach 8 Tagen: 6 Stämme dick, z. T. Molke abgeschieden; 3 Stämme mit dickem Bodensatz; die übrigen Stämme beim Kochen geronnen. Geschmack schwach-sauer, nicht unangenehm; Geruch nicht vorhanden. Nach 14 Tagen: 14 Stämme geronnen, die übrigen alle beim Kochen geronnen, sonst wie nach 8 Tagen. Nach 4 Wochen und 2 Monaten: keine weitere Veränderung.

b) Mbm. flavum.

Untersucht wurden 26 Stämme, ebenfalls bei 17° und 30°.

Temperatur: 17°. Geprüft wurde nach 1, 2, 3, 5, 14, 28 Tagen und nach 2 Monaten, äußerlich und im Geschmack waren fast alle Stämme unverändert. Nach 14 Tagen waren 6 Stämme beim Kochen geronnen, diese hatten schwach-sauren Geschmack.

Temperatur: 30°. Geprüft wurde in gleichen Zeitabständen wie im vorhergehenden Temperaturversuch. Nach 14 Tagen waren 6 Stämme beim Kochen geronnen, sie hatten schwach sauren Geschmack, Geruch war nicht festzustellen. Die übrigen Stämme blieben äußerlich und im Geschmack unverändert.

c) Mbm. mesentericum.

Das Verhalten von Mbm. mes. gegen Milch wird in einem späteren Versuch angegeben.

Aus obigen Beobachtungen geht hervor, daß Mbm. lact. die Milch langsam und dann noch schwach säuerte, Mbm. flav. rief in den meisten Fällen keine Veränderung hervor. Der Geschmack wurde, außer dem oftmals säuerlichen, nicht verändert; Geruch war ebenfalls bei keinem Stamm festzustellen; Kaseinzersetzung war nie vorhanden.

Dicklegung der Milch durch Labwirkung wurde nie beobachtet; in den Fällen, wo die Milch dick gelegt wurde, war es durch Säure.

ph-Bestimmungen.

Die Stämme wurden in Magermilch geimpft und nach 1, 2, 3, 8 und 14 Tagen Proben zur ph-Bestimmung entnommen; die Milch stand bei 30° (Tabelle 14).

10. Eine neue Rasse von Mbm. flavum.

Kurz erwähnt seien 2 Stämme, welche sich von Mbm. flavum in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften nicht wesentlich unterschieden; auffallend war die Farbe der Kolonien, welche immer orange anstatt zitronengelb war. Man könnte dies Bakterium als neue Rasse von Mbm. flavum bezeichnen.

Die Stämme wurden aus Milch und Butter isoliert.

Tab. 14. ph nach Tagen.

Stamm	1	2	3	8	14 Tage	
11	6,36	6,24	6,00	6,00	5,93	
17	6,40	6,22	5,98	5,98	5,44	
122	6,39	6,20	6,20	5,97	5,76	
123	6,53	5,93	5,76	5,68	4,98	
103	6,16	6,12	5,98	5,96	5,92	
40	6,17	5,09	5,06	3,22	dick	Mbm. lacticum
41	6,18	5,56	5,42	4,88	4,82	
3	6,34	6,21	6,18	6,10	5,76	
5	6,14	6,14	6,12	6,12	5,24	
16	6,22	6,10	5,94	5,87	5,20	
4	6,43	6,10	6,21	6,24	6,28	
5	6,53	6,13	5,34	5,98	5,96	
51	6,44	6,12	6,25	6,34	5,24	
56	6,46	6,14	6,14	6,19	6,24	
57	6,50	6,48	6,38	6,41	6,53	Mbm. flavum
61	6,53	6,15	5,20	4,93	5,07	
63	6,51	6,48	6,16	6,20	6,24	
105	6,50	6,50	6,49	6,52	5,52	
8	6,48	6,34	6,25	6,10	5,93	
9	6,51	6,14	6,22	6,31	6,27	
7	6,39	6,13	6,06	6,04	5,96	Mbm. mesentericum
90	6,52	6,48	6,48	6,44	6,44	

Kontrolle (nicht beimpfte Milch) 6,53—6,50.

V. Morphologische Untersuchungen.

1. Mbm. lacticum.

Nach Orla-Jensen ist Mbm. lact. ein kleines, dünnes Stäbchen, ohne Sporen, die Größe beträgt 0,3 : 1 μ. 10 der isolierten Stämme wurden neben den Originalstämmen von Orla-Jensen im Bouillonfederstrich und im Traubenzuckerbouillon-Federstrich bei 17° und 30° beobachtet.

Als auffallend und typisch kann man die geringe Dicke bezeichnen, auch war stets ein schwaches Lichtbrechungsvermögen vorhanden. Die Länge des Bakteriums variiert von 1—2 μ. Eine typische Lage war nicht zu erkennen, oft lagen sie in Häufchen, aber nie in Ketten. Diese „normalen" Stäbchen wuchsen auf folgenden Nährsubstraten: Bouillon-, Traubenzucker-, Milchzucker-, Kuntze-Agar, Vollmilch, neutraler Würze und Leberbouillon; auch bei Zusatz von 1, 2 und 3% Kochsalz sowie nach einem Erhitzen auf 80° und auf 63° 30 Min. war die Form dieselbe geblieben.

2. Mbm. flavum.

Nach Orla-Jensen ist Mbm. flavum ein plumpes Stäbchen von der Größe 0,5 × 1—2 μ, kann oft bis zu 10 μ lang werden und außerdem in kokkenähnlichen Formen auftreten. 10 der isolierten Stämme wurden neben den Originalstämmen von Orla-Jensen im Bouillonfederstrich und Traubenzuckerbouillon-Federstrich bei 17° und 30° beobachtet.

Sehr oft lagen die Stäbchen zu vieren mit der Längsseite nebeneinander, oftmals auch in Häufchen zusammen, jedoch nie in Ketten. Nach 8 Tagen wurden oft keulenförmig angeschwollene Stäbchen und solche von unregelmäßiger Gestalt beobachtet. Bei manchen Stämmen zeigten sich in Traubenzuckerbouillon nach etwa 14 Tagen in den geschwollenen Formen Querwände, die Teilstücke rundeten sich oftmals ab und lagen dann zu 2 oder 4 wie Streptokokken hintereinander. Nach dem Erhitzen von 15 Min. auf 60° blieben die meisten Stämme normale kleine Stäbchen, nur selten zeigten sich kolbige Anschwellungen. Bei Zusatz von 1, 2 und 3% Kochsalz wurde keine Veränderung in der Form bemerkt.

Vom normalen Typus abweichende Formen traten bei anaerobem Wachstum auf. Die Stäbchen waren dann kolbig angeschwollen und von unregelmäßiger Form; dasselbe war der Fall bei einer Wachstumstemperatur von 6—8° und 37°, außerdem bei Bouillonagar mit einem ph von 5,8 bis 5,0.

3. Mbm. mesentericum.

Bei morphologischen Untersuchungen zeigte Mbm. mesentericum eine große Mannigfaltigkeit an Formen. Bald wurden Stäbchen gesehen, bald lange Fäden mit Verzweigung, bald größere oder kleinere „Kokken" von regelmäßiger oder unregelmäßiger Gestalt; auch runde oder kolbige Anschwellungen an den Enden der Fäden wurden beobachtet. Das Wachstum im Strich war entweder kraus oder glatt, oft zeigte der Strich zart-gelbe Oberflächenschicht. Dieser interessante Formenreichtum schien lohnend für eingehende morphologische Studien.

Auf die reiche Literatur über Variabilität der Bakterien näher einzugehen, würde aus dem Rahmen dieser Arbeit herausführen. Es sei hingewiesen auf die Arbeiten von Baerthlein, Cunningham, Eisenberg, Haag, Jollos, Kuhn, Löhnis, Stahl, Oesterle und Stapp. Daß alle Mikroorganismen sowohl morphologisch wie biologisch stark variieren können, steht heute als Tatsache fest, nur die Deutung ist verschieden. Diese Variabilität kann entweder durch Einwirkung künstlicher äußerer Bedingungen erfolgen oder aus unbekannten Gründen. Die häufigste Form der Variation bei Bakterien ist die Modifikation, welche die verschiedensten Eigenschaften betreffen kann. Sie ist nicht erblich, sondern tritt nur solange in Erscheinung, wie die auslösende Ursache, z. B. Temperatur, Stoffwechselprodukte, chemische Substanzen, auf die Zelle einwirkt. Veränderungen, bei welchen nicht immer die äußeren Reize erkannt werden, und welche oftmals anscheinend spontan auftreten, werden in der Botanik als „Mutation" bezeichnet. Viele Forscher, wie Jollos und E. Lehmann, lehnen die Mutation für die Bakterien ab und sprechen von Dauermodifikation, welche für kürzere oder längere Zeit konstant ist.

Löhnis und Enderlein halten sämtliche Varietäten für Kreislaufformen. Kuhn schreibt die Veränderlichkeit der Einwirkung von „Pettenkoferien" zu.

Eine häufige Erscheinung in Bakterienkulturen ist das Auftreten von „Involutionsformen", wie sie von Henneberg z. B. für Essigbakterien beschrieben und gezeichnet worden sind (11). Diese Erscheinungsformen sterben nach kürzerer oder längerer Zeit ab.

Methodik.

Das Haupterfordernis bei Variationsversuchen ist das der unbedingten Reinheit der zu untersuchenden Stämme. Während von einigen Forschern nur die Einzellkultur für derartige Untersuchungen Gultigkeit hat, wird sie von anderen scharf kritisiert. In folgenden Versuchen wurde auf die Einzellkultur verzichtet, die Stämme wurden 5 mal durch Platten geschickt und mikroskopisch auf Reinheit gepruft. Es konnte der Einwand gemacht werden, daß sich bei dieser Methode z. B. Löhnis' „kleinste Gonidien" anderer Bakterienarten anheften konnten. Da diese aber oft sehr klein, sogar filtrierbar sein sollen, wurde man auch bei den Einzellkulturen mit derartigen Verunreinigungen zu rechnen haben. Viele Parallelversuche mit ubereinstimmenden Resultaten burgen gewissermaßen fur eine reine Ausgangskultur.

Fast alle morphologischen Veränderungen wurden im Federstrich nach Henneberg beobachtet (12). Dadurch, daß man dieselbe Stelle des Präparates immer wieder einstellen kann, ist auch fortlaufende Beobachtung moglich. Es wurde großer Wert darauf gelegt, die hauptsachlichsten morphologischen Veränderungen fortlaufend unterm Mikroskop zu beobachten, ohne daß das Präparat bewegt wurde. Stets wurden auf Agar Parallelversuche ausgefuhrt, um auch eine evtl. Veranderung in der Koloniebildung wahrzunehmen.

Die Untersuchungen wurden mit 3 Stämmen angestellt, darunter der Originalstamm 7 von Orla-Jensen. Die Stämme zeigten gute Übereinstimmung, so daß die Resultate deshalb nicht fur jeden einzelnen Stamm, sondern zusammenfassend gegeben sind.

a) Normale Morphologie.

Nach Orla-Jensen bildet Mbm. mes. lange, dunne, oft gekörnte Stabchen. Eine Abbildung zeigt außerdem Fadenform; auf akal., zuckerfreier Gelatine sieht dieses Mikrobakterium wie Streptokokken aus.

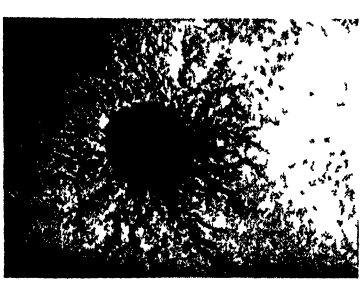


Abb. 1.

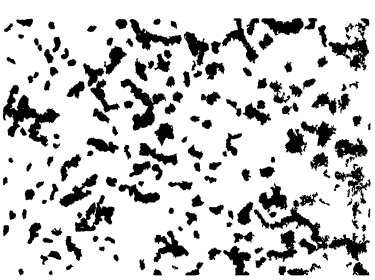


Abb 2.

Abb. 1. Kolonie von Mikrobacterium mesentericum auf Bouillonagar. 40 : 1.

Abb. 2. Stäbchenform von Mikrobacterium mesentericum. Vitalfarbung Fuchsin. 500 : 1.

Die Ausgangsform für die folgenden Versuche waren Stäbchen, welche leicht zu kurzen oder langen Fäden auswachsen (s. Abb. 2 und 3). Der Strich auf Bouillonagar, Kaseinpeptonagar und Kartoffel wächst, in dicker Auflage grau, mit mehr oder weniger krauser bis schwach gefalteter,

matter Oberfläche, jedoch nie häutig. Die Kolonien sind ebenfalls grau, in den ersten Tagen eben und feucht, nach 4—5 Tagen kraus bis gefaltet und matt. Kolonien wie Strich haften mit der Unterseite fest am Agar (s. Kolonie Abb. 1).

Die Stäbchenform wurde gefunden auf (s. Abb. 2):

Bouillonagar: ph 7,0—7,2 bei 13°, 17° und 30°.
„ : „ 6,8—7,0 „ 13°, 17° „ 30°.
Kaseinpeptonagar: ph 6,8—7,0 bei 13°, 17° und 30°.
„ + Zucker bei 13°, 17° und 30°.
Traubenzuckerbouillon: ph 7,0—7,2 bei 13°, 17° und 30°.
Milch.
Bouillonagar: 1—3% NaCl bei 17° und 30°.
„ + 1% + 2% LiCl bei 17° und 30°.
„ + 2% NH_4Cl bei 17° und 30°.

Die Fadenform wuchs auf (s. Abb. 3):

Bouillonagar: ph 7,2—7,6 bei 17° und 30°.
Glyzerinagar: ph 7,2—7,6 bei 17° und 30°.
Dextrinagar: ph 7,2—7,6 bei 17° und 30°.
Stärkeagar: ph 7,2—7,6 bei 17° und 30°.
Kartoffel bei 17° und 30°.
Bouillonagar + Na_2CO_3: ph 7,8—8,0 bei 17° und 30°.
Bouillon: ph 7,2—7,4 bei 17° und 30°.

Die Bildung von langen Fäden ist bei Bakterien sehr häufig, z. B. bei B. alcaligenes, B. coli, Corynebakterien, Choleravibrionen, Thermobakterien. Verzweigungen kommen nach Lehmann-Neumann (19) nur bei Coryne-, Mykobakterien und Aktinomyzeten vor. Die Verzweigung von Mbm. mesentericum ist monopodial. Die Stäbchen und Fäden sind nicht säurefest, aber Gram-positiv, sie vertrugen die Entfärbungsdauer mit Alkohol 4 Min. lang.

Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 3. Fadenform von Mikrobacterium mesentericum. Federstrich in Bouillon, ungefärbt. 500 : 1.

Abb. 4. Bildung von kugeligen Anschwellungen bei Mikrobacterium mesentericum. Vitalfärbung Methylenblau. 500 : 1.

b) Bildung von kugeligen Anschwellungen (s. Abb. 4).

Vorkommen. Auf Nährböden mit 1—2% Zuckerzusatz zeigten Stäbchen wie Fäden „kugelige" oder auch „spindelförmige" Anschwellungen, welche die Bakterien bzw. Fäden an Dicke bedeutend überragten. Ihre Größe betrug etwa 2 : 3 μ, auch 3 : 4 μ. Nicht nur am Ende, auch in der Mitte der Stäbchen und Fäden entstanden häufig diese kugeligen Anschwellungen. Sie sind gut lichtbrechend, mit Methylenblau gut färb-

bar, Gram-positiv. Im Innern enthalten sie ein bis mehrere lichtbrechende Körper, welche sich mit Methylenblau nicht färbten.

Die Entstehung dieser „Kugeln" wurde immer beobachtet auf Nährböden mit Zusatz von 2% folgender Kohlehydrate: Arabinose, Galaktose, Lävulose, Mannose, Maltose, Saccharose, Laktose, Stärke, Inulin, Raffinose oder 2% Salizin, ferner auch auf Kartoffel. Die „Kugeln" erschienen nach 4—8 Tagen, nach etwa 14 Tagen waren fast alle Stäbchen bzw. Fäden an der Kugelbildung beteiligt. Auf Bouillonagar, ph 7,2—7,4, und Kaseinpeptonagar, ph 7,2—7,4, erschienen die Anschwellungen nach etwa 14 Tagen an vereinzelten Stäbchen oder Fäden. Nie beobachtet wurde ihre Entstehung auf Bouillonagar, ph 6,4—6,8, und auf Bouillonagar mit Kochsalzzusatz.

Die Bildung dieser „Kugeln" war nicht abhängig von der Temperatur; sie entstanden sowohl bei 13°, 17° und 30°. Auch die H'-Konzentration schien nicht die Ursache dieser Bildungen zu sein, denn die Kohlehydrate, bei deren Zusatz sie entstehen, werden entweder gar nicht, schwach oder stark gesäuert, so daß der ph im Laufe des Versuchs sehr verschiedene Werte annahm. Auf Bouillonagar ph 6,4—6,6 wurden diese „Kugeln" nie gefunden, ein saures Medium scheint demnach nicht die Anregung der Bildung zu sein. Auch die höhere Salzkonzentration des Nährbodens kann nicht als Ursache angesehen werden, auf Nährböden mit Zusatz von 2% NaCl, von 2% LiCl und 2% NH_4Cl wurde nie Kugelbildung festgestellt.

Die Entstehungsweise wurde unterm Mikroskop fortlaufend beobachtet. Das Ende des Stäbchens oder Fadens bzw. ein Teil der Mitte schwoll allmählich an, bis es zur Kugel geworden war.

Schon verschiedentlich sind in der Literatur solche Gebilde beschrieben und abgebildet worden, ähnlich z. B., nur bedeutend größer, sind die Formen, wie sie Henneberg (11) für die Essigbakterien abgebildet hat. Henneberg bezeichnet sie als „hypertrophische Zellen" oder „Involutionsformen". Auch Lieske (17) hat ähnliche Anschwellungen bei Aktinomyzeten abgebildet, die er als „kugelförmige Involutionsformen" benennt, er erhielt sie auf Agar mit Zusatz von Rohrzucker, Traubenzucker und 5—7% NH_4Cl. Durch Zusatz von NH_4Cl konnte bei Mbm. mes. die Bildung nicht erreicht werden. Löhnis (20) bezeichnet diese Keulenbildung als eine Art „Gonidangien", in denen eine größere Zahl von Gonidien entsteht, analog der Bildung zahlreicher Sporen in einem Mukorsporangium. Haag (10) fand auch häufig Keulenbildung, hat aber nie den Zerfall in Gonidien beobachten können. Vierling (36) fand bei Mykobakterien nach 14 Tagen in Peptonwasser kugelige Anschwellungen, auch auf festen Nährböden hoher Konzentration, ebenfalls bei Lithium-Zusatz. In frischer Nährlösung keimten sie aus. Cunningham (5) beobachtete „spindel-kugelförmige Anschwellungen" bei seinen Studien über B. saccharobutyricus Kleckii in der Mitte der Stäbchen. Die Form erinnert der Abbildung nach sehr an oben beschriebene Formen. Bei Cunningham traten sie nach 4 Tagen auf normalen Nährböden auf. Cunningham ist zwar der Ansicht, daß man sie nicht als bloße Involutionsformen bezeichnen kann, weil sie doch auf der Höhe der Entwicklung und auf normalen Nährböden ohne besondere Zusätze gebildet werden, jedoch konnte er nie den Beweis erbringen, „daß diese Zelltypen als Gonidien fungieren", sich also weiter entwickeln.

Es interessierte die Frage, ob diese „kugelförmigen Gebilde" bei Mbm.

m e s. absterben, also Involutionsformen sind, oder ob sie als Fortpflanzungsorgane gelten können, sei es als „Gonidangien", dann müßten sie entweder zerfallen oder sich durch Teilung vermehren, oder als eine Art Spore, dann müßten sie auskeimen.

Man mußte bei der Beobachtung sehr vorsichtig sein, da fast an jeder Kugel noch ein Stück des Bakteriums bzw. Fadens saß, deren Auswachsen zu Irrtümern Veranlassung geben konnte. Die eingestellten „Kugeln" wurden unterm Mikroskop fortlaufend beobachtet, sowohl solche von einer 8 Tage alten Kultur wie auch von einer 4 Wochen alten Kultur, denn es wäre möglich, daß eine Ruhepause vor dem Weiterwachsen nötig wäre. Die Beobachtung der Kugeln erstreckte sich über 2 Monate sowohl in Federstrichen wie in Adhäsionskulturen auf Agar. Nach dieser Zeit lagen in allen Präparaten die „Kugeln" unverändert da. Es muß bemerkt werden, daß zur Beobachtung sich die Kugeln mit sehr kurzen Fadenenden am besten eigneten, da lange Fadenenden in neuen Nährmedien sofort kräftig zu wachsen anfingen und bald die Kugeln überlagerten. Kurze Fadenenden wuchsen nicht.

Außer durch Nährmedien mit einem ph von 6,6—6,8, von 7,2—7,4 und von 7,8—8,0 wurde nun versucht, durch Reizmittel (LiCl und Erhitzung), welche oft zur Beschleunigung bei Formveränderung angewendet werden, eine Veränderung der Kugeln zu erhalten. Zunächst wurde eine Bakterienaufschwemmung, die zahlreiche Kugelbildung zeigte, in Bouillon ph 7,2—7,4 erhitzt: 55° 5, 10, 20, 30 Min., 58° 5, 10, 20 Min., 60° 1, 3 Min. und 63° 1, 3 Min. Es wurden Federstriche angelegt und diese 4 Wochen lang beobachtet. Eine Veränderung der Kugeln war nirgends festzustellen. Auch bei Zusatz von 1 und 2% LiCl zu Bouillonagar wurde keinerlei Veränderung der Kugeln erreicht.

Nach diesen Versuchen muß man die „kugelförmigen Anschwellungen" als I n v o l u t i o n s f o r m e n bezeichnen, die mit der Zeit absterben.

c) B i l d u n g v o n k o k k e n ä h n l i c h e n F o r m e n (s. Abb. 5).

Machte man von 4—8 Wochen alten Bouillonagarkulturen ph 7,0—7,4 Präparate, so sah man alle möglichen Formen, z. B. kokkenähnliche Gebilde, gleichmäßig oder ungleichmäßig geformt, oft lagen 2—6 hintereinander, außerdem fielen merkwürdig geformte, längliche Gebilde auf, die fast wie krumme Stäbchen aussahen. Die Größe all dieser Formen war sehr verschieden. Sie traten auf folgenden Nährböden nach 4—6 Wochen bei 17° auf: Kartoffel, Bouillonagar +: Dextrin, Galaktose, Mannit, Sorbit, Stärke, in Leberbouillon und Milchzuckerbouillon; in Abkochungen von Kuhkot, verfaultem Stroh oder Heu erschienen die Formen schon nach 8—12 Tagen, die Präparate zeigten fast nur „Kokken". Die Temperatur scheint auf die Entstehung keinen Einfluß zu haben, auch nicht der ph, denn die Kohlehydrate wurden verschieden stark gesäuert, maßgebend schien nur das A l t e r d e r K u l t u r zu sein. Es wurde in Federstrichen und Adhäsionspräparaten die E n t s t e h u n g der eigenartigen Formen fortlaufend unterm Mikroskop beobachtet; als Nährböden dienten Bouillonagar, Bouillon, Milchzuckeragar und Milchzuckerbouillon. Die Stäbchen und Fäden wurden allmählich dicker, die Dicke war selbst in demselben Präparat ganz verschieden. Nach etwa 4 Wochen sah man zuerst sehr schwach, dann deutlich Querwände in den Stäbchen und Fäden. Die Querwände

waren nicht gleichmäßig voneinander entfernt, so daß die Größe der Teilungsstücke nicht gleichmäßig sein konnte. An jedem Ende der Fäden waren die Teilstücke oft gebogen, bald dicker, bald dünner (s. Abb. 6). Allmählich schwollen die Teilungsstücke stärker an, bis sie dann mehr oder weniger große, kugelähnliche Form hatten, die Endstücke blieben länglich. Im Federstrich wurde die Trennung nicht gesehen, färbte man aber den Federstrich, so lagen die Teilstücke in Gestalt von unregelmäßig geformten „Kokken" meist einzeln da, ihre Größe war ganz verschieden. Jedes Teilstück enthielt einen lichtbrechenden Punkt. Alle „Kokken" waren Gram-positiv, aber nicht säurefest.

Die Ursache des Zerfalls scheint in der Anhäufung der Stoffwechselprodukte zu liegen, denn der Zerfall wurde nur in älteren Kulturen beobachtet und ging auf Agar von der Mitte der Kolonie bzw. des Striches aus.

Der Zerfall von Stäbchen und Fäden in kokkenähnliche Teile wurde oft beschrieben, z. B. von Lieske für Aktinomyzeten, ebenfalls für Mykobakterien.

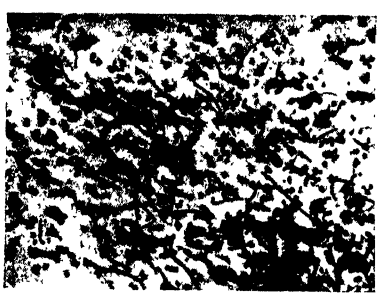


Abb. 5.

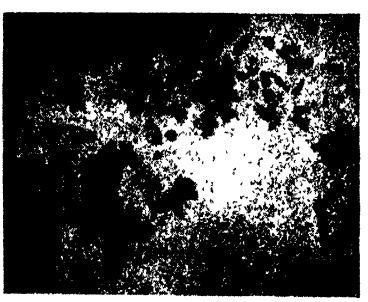


Abb. 6.

Abb. 5. Bildung von kokkenähnlichen Formen bei Mikrobacterium mesentericum. Vitalfärbung Fuchsin. 500 : 1.

Abb. 6. Entstehung der kokkenähnlichen Formen bei Mikrobacterium mesentericum. Vitalfärbung Fuchsin. 750 : 1.

Versuche, den Zerfall zu beschleunigen.

Am schnellsten ging der Zerfall in die kokkenähnlichen Teilstücke in Abkochungen von Kuhkot oder Fäulnislösungen von Heu und Stroh vor sich, doch auch hier dauerte er noch 10—12 Tage. Da viele Forscher eine Beschleunigung der Formveränderungen durch Zusatz von Lithium erreichten, wurden auch in diesem Falle Federstriche mit 1- und 2 proz. LiCl-Bouillon hergestellt, außerdem wurde Agar mit 1 und 2% LiCl vermischt. Bei Zusatz von 2% LiCl war das Wachstum erst nach 14 Tagen gut, bei Zusatz von 1% LiCl war es nach 3 Tagen mittelstark. Eine Beschleunigung des Zerfalls in kokkenähnliche Bruchstücke war nicht erreicht worden. Es fiel auf, daß nur Stäbchenformen und nie lange Fäden zu sehen waren.

Eine Beschleunigung von Formveränderungen wurde laut Literaturangaben durch die Erhitzungsmethode nach Kuhn erreicht. Aufschwemmungen von Mbm. mes. wurden deshalb in Bouillon ph 7,2 im Wasserbad in Reagenzgläsern auf folgende Temperaturen erhitzt und darauf Federstriche angelegt:

55° 5, 10, 15, 20, 30, 50 Min.	60° 1, 5 Min.
58° 5, 10, 15, 20, 30, 50 „	63° 1, 5 „

In keinem einzigen Fall wurde eine Beschleunigung des Zerfalls der Stäbchen und Fäden hervorgerufen, die Form war immer unverändert und das Wachstum gut.

Weiterentwicklung der kokkenähnlichen Bruchstücke.

Von den kokkenähnlichen Bruchstücken wurden in Bouillon Federstriche angelegt und diese unterm Mikroskop fortlaufend beobachtet. Schon nach einem Tage bei 17° sah man einen kleinen Keimschlauch an einer Stelle austreten, welcher allmählich zu einem Stäbchen oder langen Faden mit Verzweigung heranwuchs. Andere „Kokken" keimten an 2 oder 3 Stellen aus, (Abb. 7), vor dem Auskeimen quollen sie meist etwas auf; die unregelmäßig geformten „Kokken" rundeten sich in der frischen Nährlösung meistens ab. Auch sehr kleine „Kokkenformen" keimten aus, jedoch scheinen die Teilungsformen zur Keimung von einer gewissen Kleinheit ab nicht mehr befähigt zu sein, wie in einem späteren Versuch gezeigt werden wird. Das Auskeimen wurde beobachtet auf: Adhäsionskulturen von Bouillonagar ph 7,2—7,4, ph 7,8—8,0; ferner in Federstrichen von Bouillon ph 7,0—7,4 und ph 7,8—8,0; in Milchzuckerbouillon. Die Temperaturen betrugen 17° und 30°.

Abb. 7.

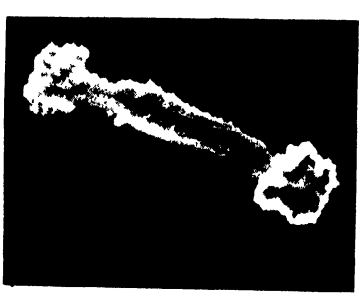


Abb. 8.

Abb. 7. Keimung der kokkenähnlichen Formen von Mikrobacterium mesentericum. Federstrich in Bouillon, ungefärbt. 750 : 1.

Abb. 8. Auskeimen der kokkenähnlichen Formen von Mikrobacterium mesentericum auf der Agarplatte. Natürl. Größe.

Die Abb. 8 zeigt ein Auskeimen direkt auf der Platte. Der Strich hat in der Mitte eine glatte Oberfläche und ist hier in die kokkenähnlichen Bruchstücke zerfallen, Klatschpräparate zeigten keine Fäden und Stäbchen mehr. Nach einiger Zeit entstanden an den Enden der Striche Auswüchse mit krauser Oberfläche, welche aus langen Fäden bestanden. Allmählich umgab sich der ganze Strich mit einem krausen Rand. Diese Erscheinungen wurden auf Agar mit Zusatz von Stärke und von Galaktose beobachtet.

Einfluß von LiCl auf die kokkenähnlichen Formen.

LiCl 1% . . . . . Bouillonfederstrich . . . . Bouillonagar	Wachstum gut, grau. Keimung positiv, aber nie zu langen Fäden, sondern nur zu Stäbchen.
LiCl 2% . . . . . Bouillonfederstrich . . . . Bouillonagar	Wachstum gehemmt. Ein Teil der „Kokken" keimte aus, ein anderer Teil vermehrte sich als Kokkenform und zwar durch Teilung.

Einfluß von höheren Temperaturen auf die Morphologie der kokkenähnlichen Formen.

60°	1 Min.	Keimung zu langen Fäden.
63°	1 „	Keimung zu langen Fäden, außerdem Vermehrung als Kokkenform und zwar durch Teilung. Wachstum gut.
63°	10 „	Wie 63° 1 Min.
63°	30 „	Wachstum mäßig, ein kleiner Teil der „Kokken" keimte aus, der größte Teil vermehrte sich durch Teilung.
70°	1 „	Wie 63° 30 Min.

d) Bildung einer gelb wachsenden Form. (Winzig kleine Stäbchen und Kokken.)

Auf 4—8 Wochen alten Bouillonagarkulturen war die Oberfläche meistens schwach gelb geworden. Klatschpräparate dieser gelben Schicht zeigten winzig kleine Stäbchen oder winzig kleine Kokken neben allen möglichen anderen Formen. Dieselbe Erscheinung wurde immer auf saurem

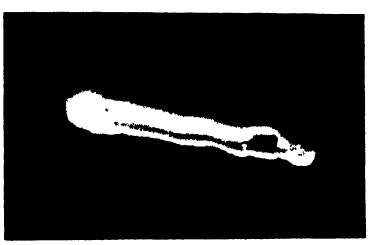


Abb. 9.

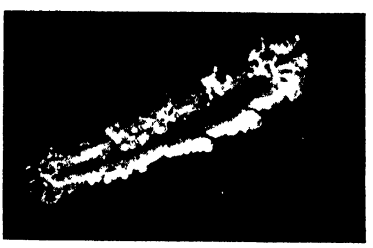


Abb. 10.

Abb. 9. Wachstum der gelb wachsenden Formen (kleine Stäbchen) von Mikrobacterium mesentericum auf Agar. Natürl. Größe.

Abb. 10. Wachstum der „normalen" Form von Mikrobacterium mesentericum auf Agar. Natürl. Größe.

Bouillonagar ph 6,6 schon nach 10—14 Tagen bemerkt. Durch Abimpfen von der gelben Oberfläche und Plattengießen konnten Reinkulturen von Kolonien mit zitronengelber Farbe gewonnen werden; ihr Durchmesser betrug 1—2 mm. Klatschpräparate zeigten, daß die Kolonien nur aus winzig kleinen Stäbchen oder Kokken bestanden. Auch auf Schrägagar geimpft (Abb. 9), war das Aussehen von dem des „normalen" Mbm. mesenteric. vollkommen verschieden (Abb. 10). Der Strich war gelb, glänzend, üppig, von weicher Konsistenz, mit glattem Rand und glatter Oberfläche, nicht am Agar festhaftend. Das Wachstumsoptimum war 30°. Bei beliebig vielem Weiterimpfen auf Bouillonagar blieb die Form konstant.

Abb. 11. Mikrokolonien der gelb wachsenden Form des Mikrobacterium mesentericum im Bouillon-Federstrich. Ungefärbt. 500 : 1.

Auch in Bouillonfederstrichen ließen sich diese winzig kleinen Stäbchen weiterzüchten, sie bildeten Mikrokolonien (Abb. 11).

In Federstrichen und Adhäsionspräparaten konnte trotz vieler Versuche die Aufteilung der Stäbchen bzw. Fäden in diese kleinsten Teilstücke

nicht beobachtet werden. Während auf alten Agarplatten, sei es im Strich oder in der Kolonie fast regelmäßig diese gelb wachsenden Formen entstanden, wurden sie in Federstrichen und Adhäsionspräparaten aus nicht geklärten Gründen sehr selten gebildet.

In der Literatur wurden „kleine Stäbchen" und „kleine Kokken", welche gelb wachsen, unter anderen von Kuhn, Löhnis und Hausam beschrieben; auch bei diesen Forschern waren diese Formen aus „normalen" Bakterienformen entstanden. Cunningham und Bredemann beobachteten die Entstehung von gelb wachsenden Kokken aus B. saccharobutyricus, Oesterle (22) beschreibt „gelbe Formen" von B. mycoides, welche aus sehr kleinen, Gram-negativen Stäbchen bestanden. Nach Kuhn bleiben diese „Kokken" jahrelang konstant, nur durch Erhitzen auf 58° 30—120 Min. war es ihm möglich gewesen, sie in die Normalform zurückzuverwandeln. Bei Hausams Colibakterien (10 a) gelang die Rückwandlung der gelben Kokken in Stäbchen nur einmal, im allgemeinen waren sie sehr konstant.

Versuche, die „kleinen Stäbchen" in normale Formen zurückzuführen.

Die „kleinen Stäbchen" wurden geimpft auf:

Bouillonagar: ph 7,2—7,4, Temperatur 17° und 30°.
Kaseinpeptonagar: ph 6,0, Temperatur 17° und 30°.
Traubenzuckeragar: ph 7,2—7,4, Temperatur 17° und 30°.
B.-Agar + Milchsäure: ph 6,6, Temperatur 17° und 30°.
B.-Agar + Milchsäure: ph 6,0, Temperatur 17° und 30°.
Bouillon: ph 7,2—7,4, Temperatur 17° und 30°.
Traubenzuckerbouillon: ph 7,2—7,4, Temperatur 17° und 30°.
Bouillon + Na_2CO_3: ph 8,0—8,2, Temperatur 17° und 30°.
Bouillon + 1% LiCl: Temperatur 17° und 30°.
Bouillonagar + 1% LiCl: Temperatur 17° und 30°.
Bouillon + 2% LiCl: Temperatur 17° und 30°.
Bouillonagar + 2%: Temperatur 17° und 30°.

Eine Rückwandlung der „kleinen Stäbchen" in die normale Form gelang nicht.

Erhitzungsversuch.

Aufschwemmungen der „kleinen Stäbchen" wurden in Bouillon ph 7,2 bis 7,4 auf folgende Temperaturen erhitzt und Federstriche angelegt:

55° 5 Min.
58° 5, 10, 20, 30 Min.
60° 1 Min.
63° 1, 10, 30 Min.
70° 1 Min.

In allen Federstrichen waren nur kleine Stäbchen bzw. kleine Kokken gewachsen, die Rückwandlung in die Ausgangsform gelang nicht.

Die gelb wachsenden, kleinen Formen waren nach obigen Versuchen sehr konstant, auch ihre physiologischen Eigenschaften unterschieden sich von denen des „normalen" Mbm. mes. Sie dürften wahrscheinlich als Dauermodifikation des Mbm. mesentericum anzusprechen sein.

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß aus Kot eines Milchkalbs ein Stamm isoliert wurde, der gelbes Wachstum und diese auffallend

kleinen Formen, bald Stäbchen, bald Kokken zeigte; auch in den physiologischen Eigenschaften ähnelte er den „kleinen Stäbchen". Es wäre daran zu denken, daß Mbm. mes. in der Natur in dieser Form vorkommt.

Als kurze Zusammenfassung der morphologischen Erscheinungen ergibt sich folgendes Schema:

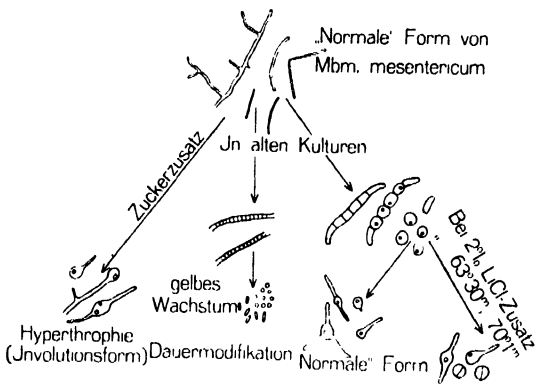


Abb. 12.

e) Physiologie der verschiedenen Formen des Mbm. mes. (Normale Formen, kokkenähnliche Formen, kleine, gelb wachsende Stäbchen.)

1. Gramfärbung: alle Formen Gram-positiv.
2. Säurefestigkeit: alle Formen negativ.
3. Katalase: alle Formen positiv.
4. Fettzersetzung, Kaseinabbau, Gelatineverflüssigung, Indol, Hämolyse: alle Formen negativ.
5. Säuerung von Kohlehydraten und Alkoholen:

	Normale Form	Kokkenähnliche Form	Kleine Stäbchen
Dextrose	++	++	+
Galaktose	++	++	++
Mannose	+	+	+
Laktose	+	+	—
Saccharose	++	++	+
Maltose	+	+	—
Arabinose	+	+	+
Stärke	+	+	—
Dextrin	++	++	—
Glyzerin	++	++	++
Mannit	+	+	+

++ = Kolonie blau, schwacher bl. Hof, + = Kolonie blau, ohne Hof.

Die kleine, gelb wachsende Stäbchenform hatte das Gärvermögen für Milchzucker, Maltose, Stärke und Dextrin verloren.

6. Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit.

Von allen 3 Formen wurden sehr dünne Ausstriche auf sterile Deckgläser gemacht und diese in sterilen Petrischalen im Exsikkator, der

mit Chlorkalzium gefüllt war, aufbewahrt. Nach 1, 2, 3, 4 Wochen wurde je ein Ausstrich mit Bouillon schwach angefeuchtet und auf eine Bouillonagarplatte gelegt. Nach einem Tage wurde das Deckglas heruntergenommen und die Weiterentwicklung beobachtet.

Die „normalen" Formen vertrugen das Austrocknen 3 Wochen lang, sie wuchsen nach dieser Zeit in nicht veränderter Form. Die kokkenähnlichen Teilstücke vertrugen das Austrocknen 4 Wochen lang, sie waren zu normalen Fäden ausgekeimt. Die kleinen Stäbchen (gelbe Form) vertrugen das Austrocknen 4 Wochen lang, sie wuchsen auch nach dieser Zeit mit gelber Farbe, ihre Form war unverändert.

Sowohl die kokkenähnlichen Teilstücke wie die kleinen Stäbchen zeigten größere Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit als die „normale" Form des Mbm. mes.

7. Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen.

Die Bakterienaufschwemmung (in Bouillon ph 7,2—7,4) wurde in Ampullen im Wasserbad erhitzt und dann auf Bouillonagar geimpft.

	55°	58°					60°	63°		70°		80°
	5′	5′	10′	20′	30′	50′	1′	10′	30′	1′	10′	1′
Normale Form	+++	+++	+++	+++	++	–	+++	+	–	–	–	–
Kokkenähnliche Form	+ + +	+++	+++	+++	+ +	–	+++	+ +	++	+	–	–
Kl. Stäbchen(gelb)	+ + +	+++	+++	+++	++	–	+ + +	++	++	+	–	–

+++ = Wachstum normal, ++ Wachstum etwas schwächer, + Wachstum schwach.

Bemerkenswert ist, daß die Teilungsprodukte widerstandsfähiger gegen Hitze sind als die „normalen" Formen. Während letztere nach halbstündigem Erhitzen auf 63° nicht mehr wachsen, ertragen die Teilungsprodukte jeder Größe diese Erhitzung noch gut. Die gelbwachsende Form hat bei der Temp. von 70° und 63° die gelbe Farbstoffbildung verloren und wächst nur als Kokkus. Auch bei mehrmaligem Weiterimpfen blieben die grauweiße Farbe und die kugelrunde Form. Die kokkenähnlichen Formen, also die größeren Teilungsprodukte, veränderten ihre Physiologie insofern, als sie mit Zunahme der Hitzeeinwirkung die Keimfähigkeit verloren, dafür sich aber durch Teilung vermehrten.

8. Verhalten gegen Milch.

Nach 2—3 Tagen trat bei den Milchproben, die mit Stäbchen und kurzen Fäden geimpft worden waren, bei Zimmertemperatur ein „ekliger" Geschmack auf, der von Laien, die die Milch probierten, als Lysolgeschmack bezeichnet wurde. Bei den mit langen, verzweigten Fäden beimpften Milchproben war keine Geschmacksveränderung wahrzunehmen, auch nicht bei den Proben, die mit den gelbwachsenden, kleinen Stäbchen beimpft worden waren. Es wurde versucht, auf chemischem Wege Phenol

und Kresol nachzuweisen, es gelang aber nicht. Der Geschmack war auch nach dem Kochen noch ebenso stark, Geruch nach Phenol war nie wahrzunehmen. Oft kam es vor, daß der Geschmack nach 5—6 Tagen wieder verschwunden war, oft wurde die Milch nach 14 Tagen bitter, Kasein war auch dann nicht zersetzt. Das mikroskopische Bild dieser schlecht schmekkenden Milch zeigte kurze Fäden von 5—10 μ Länge, das Fett war nicht zersetzt.

VI. Beziehungen von Mbm. mes. zu Mykobakterien und Aktinomyzeten.

Im Laufe meiner Versuche wurde bemerkt, daß Mbm. mesentericum nicht nur den Milchsäurebakterien nahesteht, sondern auch viele Ähnlichkeiten mit Mykobakterien und Aktinomyzeten zeigt.

	Mbm. mesenter.	Mykobakterien	Aktinomyzeten	Milchsäurebakterien
Morphologisches und kulturelles Verhalten.				
Lange Fäden mit monopodialer Verzweigung. Stäbchen oft gekrümmt	—	+	+	—[1]
Bildung von Luftsporen	—	—	+	—
Typischer Geruch	—	—	+	—
Zerfall in kokkenähnliche Teilstücke	∓	+	+	
Kolonien haften am Agar fest	+	oft	+	—
Flüssige Nährboden nicht getrübt	±	—	+	±
Physiologisches Verhalten.				
Säurefestigkeit	—	+ u. —	+ u. —	—
Wachstum mit anorganischen Stickstoffquellen	—	—	∓	—
Bildung von Milchsäure aus Zuckern	+	+ u. —	+ u. —	+
Bildung von Milchsäure aus Stärke	±	±	±	—
Paraffine als C-Quelle	+	+	—	—
Methylenblauempfindlichkeit (Versuch nächste Seite)	+	+	++	—

[1]) Sehr selten, z. B. bei B. bifidus.

Orla-Jensen bezeichnet die Mikrobakterien, und damit das Mbm. mesentericum, als „Pseudomilchsäurebakterien" und Verwandte der echten Milchsäurebakterien. In die Gruppe der Milchsäurebakterien wurden diejenigen Bakterien eingereiht, welche bei der Zuckersäuerung vorwiegend Milchsäure bilden, Gram-positiv, unbeweglich und ohne Sporenbildungsvermögen sind. Diese Eigenschaften treffen bei Mbm. mesentericum zu; bei einer Einteilung der Bakterien in physiologische Gruppen kann man Mbm. mes. deshalb zu den Milchsäurebakterien zählen. Wollte man die Organismen nach der morphologischen Entwicklung gruppieren, so müßte man Mbm. mesentericum als Mykobakterium bezeichnen. In obiger Tabelle sind die typischen Eigenschaften der Mykobakterien und Aktinomyzeten angegeben und verglichen worden mit denen des Mbm. mes. Die Angaben wurden gemacht nach den Arbeiten von: Lehmann und Neumann (19), Bergey (3), Haag (9), Orla-

Jensen (13), Lieske (17), Söhngen (30) und Vierling (36). Die Ähnlichkeit von Mbm. mes. mit Aktinomyzeten ist zwar groß, es fehlt aber das von Lieske als typisch bezeichnete Auftreten von kreidig aussehenden Luftsporen.

Empfindlichkeit gegen Methylenblau.

Es wurden Federstriche in Bouillon + Methylenblau angelegt, außerdem wurde das Wachstum auf Bouillonagar mit Methylenblauzusatz beobachtet. Zusatz von:

0,025% Methylenblau: Wachstum negativ.
0,01 % „ „ in Spuren.
0,005% „ „ positiv, aber gehemmt.

Das mikroskopische Bild zeigte Stäbchen, nie lange Fäden.

C. Zusammenfassung.

Nach einer kurzen Charakterisierung der Gruppe der Mikrobakterien Orla-Jensens werden erfolgreiche Isolierungsmethoden der 3 Arten, Mbm. lacticum, Mbm. flavum und Mbm. mesentericum, beschrieben.

Betreffs des Vorkommens wurde gefunden, daß die Mbn. in Milch, Milchprodukten, Fäkalien und auf Gräsern selten vorhanden sind.

Aus einem Zusammenleben mit 4 der häufigsten Begleitorganismen in Bouillon ging hervor, daß deren Stoffwechselprodukte auf die Vermehrung der Mbn. keinen schädlichen Einfluß hatten; in Milchzuckerbouillon zusammen mit Säurebildnern geimpft, blieb dagegen das Wachstum der Mbn. aus.

Es wird das kulturelle Verhalten der Mbn. auf den gebräuchlichsten Nährböden angegeben.

Es werden vergleichende physiologische Untersuchungen der selbst isolierten Stämme mit den Originalstämmen von Orla-Jensen beschrieben, wie solche letzterer mit seinen Originalstämmen bereits früher durchgeführt hatte. Sie betreffen das Sauerstoffbedürfnis, die Stickstoffquellen, das Wachstum bei verschiedenen Temperaturen, das Säuerungsvermögen von Kohlehydraten, Kaseinabbau und Gelatineverflüssigung. Weiter wurden Versuche angestellt über das Vorhandensein von Lipase, hämolytischen Enzymen, Reduktase, Indolbildung, Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit, über Fütterungsversuche an Mäusen und Einfluß auf Milch. Die Resultate besagen, daß weder die 3 Enzyme noch Indol gebildet wird; Austrocknen vertrugen die Mbm. lacticum-Stämme 4—6 Wochen, Mbm. flavum 3—4 Wochen. Für weiße Mäuse war keine Pathogenität bei Fütterung festzustellen. Milch wurde von Mbm. lacticum nach 3—5 Tagen schwach gesäuert, von Mbm. flavum meist gar nicht, Geruch und Aussehen blieben unverändert. Mbm. mes. rief ab und zu einen unangenehmen Geschmack hervor.

Durch morphologische Untersuchungen wurde festgestellt, daß Mbm. lacticum auf verschiedenen Nährböden und unter verschiedenen Bedingungen ziemlich gleichmäßig in der Form blieb. Mbm. flavum erschien bald als kleines Stäbchen, bald keulenförmig angeschwollen. Mbm. mesentericum war morphologisch vielseitig inter-

essant. Seine Formveränderungen werden beschrieben und zu deuten versucht.

Am Ende und in der Mitte von Stäbchen und Fäden entstanden kugelige Anschwellungen, sie wurden als Involutionsformen erkannt, da sie nicht imstande waren, sich weiter zu vermehren, sondern abstarben.

Die Stäbchen und langen Fäden von Mbm. mesentericum teilten sich in älteren Kulturen in kokkenähnliche Bruchstücke von verschiedener Größe auf. Diese keimten auf neuen Nährlösungen aus und wuchsen zur normalen Form heran.

Die kleinsten Teilungsprodukte, winzig kleine Stäbchen oder Kokken, wuchsen mit gelber Farbe, sie wurden rein gezüchtet und konnten nicht in die Ausgangsform zurückgeführt werden. Auch physiologisch unterschieden sie sich von der „normalen" Form des Mbm. mesentericum. Diese Form wird als Dauermodifikation des Mbm. mes. angesehen.

Die physiologischen Eigenschaften der drei verschiedenen Erscheinungsformen des Mbm. mesentericum wurden vergleichend geprüft. Die kokkenähnlichen Teilungsstücke jeder Größe waren gegen Trockenheit und Erhitzung widerstandsfähiger als die „normale" Form. Die gelb wachsenden, kleinen Stäbchen säuerten Laktose, Maltose, Stärke und Dextrin im Gegensatz zu der „normalen" Form des Mbm. mesentericum nicht.

Die Stellung von Mbm. mesentericum zu Milchsäurebakterien einerseits und Mykobakterien und Aktinomyzeten anderseits wird erläutert. Mbm. mesentericum dürfte den Mykobakterien zuzurechnen sein.

Literatur.

1. Almquist, E., Biolog. Forschungen über die Bakterien. Stockholm 1925. — 2. Ayers und Johnson jr., Studies on Pasteuris. (Journ. of Bact. Vol. 9. 1924.) — 3. Bergey, Bergeys manual of determinative bacteriology. 1923. — 4. Bredemann, G., Bac. amylobacter t. M. et Bredemann. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909.) — 4a. Conn, H. J., Certain abundant non-spore forming bact. in soil. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 76. 1923.) — 5. Cunningham, A., Variability of Saccharobutyricus Kleckii. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 83. 1931.) — 6. Eisenberg, E., Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 73. 1914 und Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1919.) — 7. Enckelmann, E., Über Bakterien, welche die fraktionierte Sterilisation lebend überdauern. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 48. 1917.) — 8. Garrè, Korresp.-Blatt Schweizer Ärzte. 1887. — 9. Haag, F. E., Saprophytische Mycobakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 71. 1927.) — 10. Haag, F. E., Der Milzbranzbacillus, seine Kreislaufformen u. Varietäten. (Archiv f. Hyg. Bd. 98. 1927.) — 10a. Hausam, W., und Henneberg, W., Untersuchungen über B. coli. Dissertation. Kiel 1930. — 11. Henneberg, W., Handbuch der Gärungsbakteriologie. Bd. I und II. Berlin 1926.) — 12. Henneberg, W., Die Wichtigkeit der Federstrichkulturen. Sonderabdruck der Molkereiztg. Hildesheim. — 13. Jensen, Orla, The lactic acid bakteria. (Sect. d. Sci. Ser. 8. Vol. 5. Nr. 2. 1919.) — 14. Jollos, V., Variabilität u. Vererbung bei Mikroorganismen. (Klinische Wochenschr. 11. Jahrg. 1. 1930.) — 15. Kuhn, Ph., Weitere Einblicke in die Entwicklung der A-Form. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 93. 1924.) — 16. Lieske, R., Allgemeine Bakterienkunde. Berlin 1926. — 17. Lieske, R., Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. 1921. — 18. Lehmann, E., Bakterienmutation. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 77. 1916.) — 19. Lehmann, K. B., und Neumann, R. O., Bakteriologische Diagnostik. München 1927. — 20. Löh-

nis, F., Zur Morphologie und Biologie der Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922.) — 21. Migula, W., Einteilung und Stellung der Bakterien im System. (Lafars Handb. der techn. Mykologie. Bd. I. 1900.) — 22. Oesterle, P., und Stahl, C. A., Formenwechsel und Entwicklungsformen bei B. mycoides. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 79. 1929.) — 23. Orskow, L., Versuche über Thermoresistenz. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 105. 1926.) — 24. Pringsheim, E. G., Über gegenseitige Schädigung und Förderung von Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 51. 1920.) — 25. Robertson, A. H., Thermophilic and thermoduric microorganisms. (New York State Agricult. Exp. Stat. Techn. Bull. Vol. 31. 1927.) — 26. Rogers, E., The bact. of pasteur. and unpasteur. milk. under laboratory conditions. (United States Dept. of Agr. Bur. Animal. Ind. Bull. No. 73. 1905.) — 27. Ruschmann und Koch, Untersuchungen über den Nachweis und Verbreitung von Milchsäure-Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 80. 1930.) — 28. Schmidt-Kehl, Formenwechsel an Sarcina flava. (Archiv f. Hyg. Bd. 103. 1930.) — 29. Seibel und Henneberg, Hitzefeste Bakterien in der dauerpast. Milch. (Milchw. Forsch. Bd. 4. 1927.) — 30. Söhngen, E., Benzin, Petroleum usw. als C- und Energie-Quelle für Mycobakt. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. 1913.) — 31. Stapp, C., und Zycha, H., Morphol. Untersuchungen an B. Mycoides. (Arch. f. Mikrob. Bd. 2. 1931. Heft 3.) — 32. Weigmann und Wolff, Zur Kenntnis der Veränderung der Bakterienflora. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1908 und ebenda Bd. 45. 1916.) — 33. Weigmann, Wolff, Trensch, Steffen, Das Verhalten der Milchsäure-Bakterien bei der Erhitzung der Milch. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 45. 1916.) — 34. Wöller, H., Über die epiph. Bakterienflora gesunder grüner Pflanzen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 79. 1930.) — 35. Yates, J. W., Pin-Point colonies in plates from past. milk. (Abst. Bact. Vol. 7. 1923). — 36. Vierling, K., Morphologische und physiologische Untersuchungen über bodenbewohnende Mycobakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 52. 1920.)

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung häufiger am Buttersäureabbau beteiligter sporenbildender Bakterienspezies[1]).

[Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Hamburg, Direktor: Prof. Dr. G. Bredemann.]

Von **W. Werner.**

Mit 2 Tafeln.

A. Methodik.

Bei den Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung n-Buttersäure abbauender Bakterien in den verschiedenen Böden (Bredemann und Werner 1932, 484) wurde naturgemäß eine große Anzahl von Reinkulturen isoliert. Die nähere Prüfung dieser auf Identität untereinander und mit bekannten Bakterienspezies war eine sehr umfangreiche Arbeit. Grundsätzlich wurde dabei in der Weise vorgegangen, daß die aus den Rohkulturen der verschiedenen Böden auf Ca-n-Butyrat-Agarplatten

[1]) Teil III der „Untersuchungen über den biologischen Abbau der n-Buttersäure". Teil I: Bredemann, G., Bildung und Wiederverarbeitung der Buttersäure bei natürlichen Gärungsvorgängen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 353—381.) Teil II: Bredemann, G., und Werner, W., Über die am Abbau der Buttersäure beteiligten Mikroorganismen. Ebenda 479—497.

entstandenen Kolonien bei etwa 10—20facher Vergrößerung durchmustert und von den $CaCO_3$-Kristallen ausscheidenden Kolonien (Bredemann 1932, 375) jeweils diejenigen abgeimpft wurden, die sich in Wuchsform, Farbe und überhaupt nach Aussehen äußerlich unterschieden. Die erste Abimpfung erfolgte stets auf Ca-n-Butyrat-Agar. Hierunter ist ein Nährboden zu verstehen, enthaltend 0,3% Ca-n-Butyrat, 0,25% Pepton Witte, 0,25% Liebigs Fleischextrakt und 1,5% Agar in Leitungswasser; er wurde mit Eiweiß sorgfältig geklärt, nach heißem Filtrieren gegen Lackmus schwach alkalisch eingestellt und in üblicher Weise dreimal im Dampftopf sterilisiert. Dieser Nährboden bewährte sich nach wiederholten Versuchen zur Weiterzüchtung sehr gut. Da er außer in dem Ca-n-Butyrat noch andere C-Verbindungen im Pepton und Fleischextrakt enthält, eignet er sich naturgemäß nicht zur Prüfung der Frage, ob Ca-n-Butyrat als alleinige C-Quelle für die isolierten Arten dienen kann. Hierfür wurden Nährböden benutzt, die an Stelle von Pepton und Fleischextrakt Ammoniumnitrat bzw. Ammoniumbutyrat enthielten. Auf ihnen wachsen die Bakterien auch gut, $CaCO_3$-Kristallausscheidung tritt sogar meist schneller und kräftiger ein als auf dem Ca-n-Butyrat-Agar mit Pepton und Fleischextrakt, aber die Bakterien zeigten bei längerer Kultur auf diesen Nährböden leicht Wachstumsstörungen, Involutionsformen und Verringerung bzw. Verlust der Sporenbildung, so daß zur Weiterzüchtung Zusatz der genannten organischen N-Verbindungen (Pepton und Fleischextrakt) gewählt wurde.

Alle Kulturen wurden stets aerob bei 28° gehalten. Vor der eigentlichen Untersuchung der Reinkulturen wurden diese etwa ½ Jahr lang in regelmäßigen Abständen von etwa 14 Tagen umgeimpft, um sie an den Nährboden zu „gewöhnen" und um die durch die verschiedene Herkunft bedingte Variationsbreite der einzelnen Stämme nach Möglichkeit einzuengen und so bessere Vergleichsmöglichkeiten zwischen den einzelnen Kulturen zu schaffen. Vor jedem Umimpfen wurde das Sporenmaterial in sterilem Wasser in kleinen Reagenzröhrchen verteilt, 1 Min. lang auf 100° erhitzt. Auf die Wichtigkeit der längeren gleichmäßigen Vorbehandlung zu vergleichender Kultur hat Bredemann (1909, 405—410) eingehend hingewiesen. Da andererseits vorauszusehen war, daß ein selektiver Nährboden von der Art des verwendeten Ca-n-Butyrat-Agars gewisse Veränderungen morphologischer und physiologischer Eigenschaften der Arten hervorrufen konnte, so daß sich die auf ihm weitergezüchteten Arten nicht ohne weiteres mit den meist auf Dextrose-Fleischextrakt-Pepton-Agar kultivierten bekannten Bodenbakterien-Spezies und ihren Beschreibungen würden vergleichen lassen, wurden die Kulturen gleichzeitig auch auf letztgenanntem Nährboden weiter kultiviert. Hierzu wurde sog. ⅓ D-Agar benutzt, d. h. ein Agar, der die Nährstoffe nur in ca. ⅓ der von Arth. Meyer (1903) für seinen D-Agar angegebenen Konzentrationen enthielt. Dieser ⅓ D-Agar hat somit folgende Zusammensetzung: 0,3% Dextrose, 0,4% Pepton Witte, 0,3% Liebigs Fleischextrakt, 0,1% Natriumchlorid, 1,6% Agar in Leitungswasser. Seine Reaktion wurde mit Natriumkarbonat-Lösung gegen blaues Lackmuspapier schwach alkalisch eingestellt. Aus den späteren Untersuchungen geht deutlich hervor, daß die Kulturen auf Ca-n-Butyrat-Agar in Sporengröße, Sporentötungszeit bei 100°, Sporenkeimung bei bestimmten Sauerstoffkonzentrationen usw. gewisse Abänderungen gegenüber ⅓ D-Agar-Kulturen zeigten, wie auch gar nicht anders zu erwarten war.

Bei dieser „Vorkultur" zeigte sich nun sehr schnell die interessante

Tatsache, daß nur ein Teil der aus den Rohkulturen auf Ca-n-Butyrat-Platten herausgezüchteten Reinkulturen ebensogut auf ⅓ D-Agar wie auf Ca-n-Butyrat-Agar gedieh, daß dagegen eine ganze Anzahl anderer Ca-n-Butyrat-Reinkulturen auf ⅓ D-Agar nicht zum Wachsen zu bringen war oder auf diesem nur höchst kümmerliches Wachstum zeigte. Dieses verschiedenartige Verhalten erleichterte die Diagnose wesentlich, denn eine Identität der von uns isolierten Bakterien mit den bekannten und in der Literatur gut beschriebenen Bodenbakterien-Spezies brauchte nur in der Gruppe der auf ⅓ D-Agar wachsenden Arten gesucht zu werden.

Bei der weiteren Untersuchung der Reinkulturen dieser auf D-Agar wachsenden Gruppe stellte sich dann heraus, daß viele der aus verschiedenen Böden isolierten Bakterien untereinander identisch waren, von denen eine weitere Anzahl große Ähnlichkeit mit bereits bekannten Arten hatte. Zur näheren Diagnostizierung der Spezies dienten vorzüglich die gleichen und bewährten Methoden, die von Arth. Meyer (1903), Gottheil (1901), Neide (1904), Wund (1906), Bredemann (1908 und 1909), Viehoever (1913—14) und Stapp (1920) zur eingehenden botanischen Beschreibung der Bodenbakterien benutzt waren, also genaue Untersuchung von Sporengröße (in Wasser gezeichnet) und Sporenkeimung, Beweglichkeit der Oidien, Form und Größe derselben, Sporangien, Reservestoffe, Entwicklung auf verschiedenen festen und flüssigen Nährböden, Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen, chemische Leistungen (Gelatineverflüssigung, Bildung von Schwefelwasserstoff, Phenol, Indol, Ammoniak, Nitrit, Katalase, Reduktion von Neutralrot und Methylenblau).

Im einzelnen wurde bei Prüfung der verschiedenen flüssigen und festen Nährböden außer den von Arth. Meyer (1903, 24), Viehoever (1913/14, 247/48) und Stapp (1920, 7) angegebenen Nährlösungen noch eine weitere (XIII) benutzt, die entsprechend dem verwendeten Ca-n-Butyrat-Agar aus einer Lösung von 0,3% Ca-n-Butyrat + je 0,25% Pepton und Fleischextrakt in Leitungswasser bestand. Zur besseren Übersicht sind die Zusammensetzungen der Nährlösungen auf S. 449 zusammengestellt.

Auf festen Nährböden wurde ferner außer dem Wachstum auf Ca-n-Butyrat-Agar auch die Angreifbarkeit von Ca-Formiat, -Azetat, -Propionat, -Valerianat, -Capronat, -Caprylat und -Laktat untersucht. Diese Agar-Nährböden enthielten, entsprechend dem Ca-n-Butyrat-Agar, 0,3% der Ca-Salze der betreffenden Säuren + je 0,25% Pepton und Fleischextrakt. Bestimmung der Sauerstoffspannung für die Sporenkeimung erfolgte nach Arth. Meyer (1905) und Wund (1906) unter Benutzung der von Bredemann (1909) gegebenen Untersuchungstabellen. Gelatineverflüssigung wurde in Fleischwasser-Pepton (1%), -Gelatine (15%) und 0,5% Natriumchlorid bei Zimmertemperatur geprüft, Bildung von Schwefelwasserstoff in Fleischwasser + 1% Pepton und 0,5% Natriumchlorid mit Bleipapier, von Phenol nach Lehmann-Neumann (1927, 101) (die in zuckerfreier Bouillon gezüchtete Kultur wird mit $^1/_5$ ihres Volumens Salzsäure versetzt, destilliert und das Destillat mit Bromwasser auf Phenol geprüft). Auf Indol wurde in Trypsinbouillon-Kulturen mittels Ehrlich-Friebers Reagens geprüft (Lehmann-Neumann 1927, 100), auf Ammoniak in Nährlösung VII b mit Neßlers Reagens, auf Nitrit, indem etwa $^1/_2$ ccm einer Lösung aus α-Naphthylamin 0,1, Aqua destillata

Verzeichnis der Nährlösungen.

0	Pepton 0,83	Fleischextrakt 0,83	Rohrzucker 0,41	Dextrose 0,41
	Milchzucker 0,41	Seignettesalz 0,08	Wasser ad 100	
I	Pepton 1,0	Fleischextrakt . . . 1,0	Rohrzucker 1,0	Wasser ad 100
I a	Pepton 1,0	Fleischextrakt 1,0	Dextrose 1,0	Wasser ad 100
I b	Pepton 1,0	Fleischextrakt 1,0	Rohrzucker 1,0	Ac. tart. 0,02
	Wasser ad 100			
II	Pepton 0,5	Mannit 1,0	Trockensubstanz der Bierwürze 1,5	Wasser ad 100
III	Pepton 1,0	Natr. chlorid 0,2		Min. Nährlösung[1]) ad 100
III a	Pepton 1,0	Natr. chlorid 0,5	Dextrose 1,0	Fleischwasser ad . . 100
IV	Asparagin 1,0			Min. Nährlösung ad . 100
V	Asparagin 1,0	Glyzerin 1,0	Rohrzucker 0,5	Min. Nährlösung ad . 100
V a	Asparagin 1,0		Rohrzucker 3,0	Min. Nährlösung ad . 100
V b	Asparagin 1,0		Galaktose 3,0	Min. Nährlösung ad . 100
V c	Asparagin 1,0		Milchzucker 3,0	Min. Nährlösung ad . 100
V d	Asparagin 1,0	Glyzerin 3,0		Min. Nährlösung ad . 100
VI	Ammontartrat . . . 1,0	Glyzerin 1,0	Rohrzucker 0,5	Min. Nährlösung ad . 100
VI a	Ammontartrat . . . 1,0		Dextrose 1,0	Min. Nährlösung ad . 100
VII	Kaliumnitrat 1,0	Glyzerin 1,0	Rohrzucker 0,5	Min. Nährlösung ad . 100
VII a	Kaliumnitrat 1,0		Dextrose 1,0	Min. Nährlösung ad . 100
VII b	Kaliumnitrat 1,0	Glyzerin 1,0		Min. Nährlösung ad . 100
VIII	Kaliumnitrit 0,05	Natriumkarbonat . . 0,05		Min. Nährlösung ad . 100
VIII a	Kaliumnitrit 0,2	Natriumkarbonat . . 0,2		Min. Nährlösung ad . 100
IX	Dextrose 0,5	Rohrzucker 0,5	Glyzerin 0,5	Min. Nährlösung ad . 100
X	Asparagin 1,0	Dextrose 3,0		Min. Nährlösung ad . 100
XI	Ammonsulfat . . . 0,0025	Natriumkarbonat . . 0,05		Min. Nährlösung ad . 100
XII	Ammonlaktat . . . 0,6	Asparagin 0,4	Natriumchlorid . . . 0,4	Min. Nährlösung ad . 100
XIII	Pepton 0,25	Fleischextrakt 0,25	Ca-n-Butyrat 0,3	Wasser ad 100
XIV	Pepton 0,2	Ammonsulfat 0,2	Kaliumnitrat 0,2	Wasser ad 100
XV	Ammoniumchlorid . 1,0	Dextrose 1,0		Min. Nährlösung ad . 100
XV a	Ammoniumchlorid . 1,0	Rohrzucker 0,5	Glyzerin 0,5	Min. Nährlösung ad . 100
XVI	Natriumasparagin . 0,34	Ammoniumlaktat . . 0,6	Glyzerin 0,35	Min. Nährlösung ad . 100
	Natriumchlorid . . . 0,4			

[1]) Mineralische Nährlösung:

Kaliumphosphat	1,0	Calciumchlorid	0,1
Magnesiumsulfat	0,3	Natriumchlorid	0,1
Ferrosulfat	Spuren	Aqua destillata	1000

20,0, Acidum aceticum dilutum 150,0 und $^1/_2$ ccm einer Lösung aus Acidum sulfanilicum 0,5 und Acidum aceticum dilutum 150,0 gemischt und in einem Reagenzglas zum Sieden erhitzt wurden; nach Hinzufügen der gleichen Menge Bakterienkultur und abermaligem Erhitzen kann aus der entstehenden Rotfärbung auf die Menge des vorhandenen Nitrits geschlossen werden (Klaeser 1914, 368/369; Stapp 1920, 9). Auf Katalase wurde in Nährlösung XIII durch Hinzufügen ½ ccm 3% Wasserstoffsuperoxyds geprüft. Die Prüfung der Reduktion von Neutralrot und Methylenblau erfolgte (Stapp 1920, 9) in 10 ccm 1% Peptonbouillon, die einen Zusatz von je 2 Tropfen Methylenblau 1 + 10 bzw. 2 Tropfen einer 2% Neutralrotlösung hatte. Beimpft wurde mit kräftig entwickeltem Stäbchenmaterial.

Es waren also in erster Linie biologische Gesichtspunkte zur Diagnostik und Trennung der einzelnen Spezies maßgebend. Die genaue Untersuchung und Festlegung des biologischen Verhaltens ist um so bedeutungsvoller, als sich viele der untersuchten Arten morphologisch außerordentlich ähneln und wenig charakteristische Unterschiede zeigen, eine Trennung nach morphologischen Merkmalen allein mit einigermaßen Sicherheit also nicht erfolgen kann.

Bei dieser Gelegenheit muß überhaupt wohl darauf hingewiesen werden, daß es oft nicht ganz leicht ist, trotz der vorliegenden sehr eingehenden und sorgfältigen botanischen Beschreibung der Spezies eine neu isolierte Kultur mit einer dieser sicher zu identifizieren. In anderen Fällen gelingt das wieder leicht und sicher, besonders wenn die Spezies auffällige morphologische Merkmale zeigt, charakteristische Reservestoffe und Wuchsformen auf festen Nährböden bildet, charakteristische Sporentötungszeit und chemische Leistungen aufweist usw. Aber bei vielen gerade sehr eingehend beschriebenen Spezies sind die angegebenen Unterscheidungsmerkmale manchmal sehr gering, vgl. z. B. die von Stapp (1920) gegebene Übersichtstabelle. Und es wird Aufgabe weiterer Forschung sein, zu entscheiden, ob die Unterschiede, wie sie z. B. für Bacillus tumescens „Zopf" und Bacillus graveolens „A. Meyer et Gottheil" oder für die Spezies Bacillus mesentericus („Flügge") „Lehm. et Neum." und Bacillus pumilus „A. Meyer et Gottheil" angegeben werden, wirklich die Beibehaltung eigener Arten rechtfertigen. Das wird sich entscheiden lassen, wenn die mögliche Variationsbreite der verschiedenen Eigenschaften dieser Formen genau erforscht sein wird, in gleicher Weise, wie dies Bredemann bei je 27 verschiedenen Stämmen des B. asterosporus (1908) und des B. amylobacter (1909) getan hat mit dem Erfolg, daß viele der in der Literatur als selbständige Spezies beschriebene Formen als identisch erkannt und gestrichen werden konnten (aber trotzdem auch heute von Zeit zu Zeit wieder in der Literatur auftauchen!).

So ist es zu erklären, daß die bei den neu isolierten Kulturen gefundenen Merkmale selten ganz genau mit allen der für die vermutete Spezies beschriebenen übereinstimmten. Immerhin ließen sich die neu isolierten Kulturen in manchen Fällen mit bekannten identifizieren.

Auf diese Weise wurden von den aus den zahlreichen Bodenproben isolierten Kulturen folgende meist häufiger gefundenen Herkünfte als identisch mit bekannten Arten festgestellt.

a) Gute Buttersäureabbauer:

1. Bacillus carotarum a „Stapp".

12mal isoliert aus Bodenprobe[1]) Nr. 2 (Ackerboden von Wehrda b. Marburg), Nr. 5 (Versuchsfeld Harleshausen), Nr. 12 (Criwitz in Mecklenburg), Nr. 15 (Reitzenstein, Grenzmark), Nr. 19 (Teneriffa), Nr. 22 (Java), Nr. 31 (Bergbach Dolomiten), Nr. 33 (Deutsch-Ostafrika), Nr 35 (Ütliberg, Schweiz), Nr. 36, (Monte Pana, Dolomiten), Nr. 45 (Wüste östl. des Antilibanon) und Nr. 47 (Salzsteppe am Toten Meer).

2. Bacillus mycoides „Flügge".

5mal isoliert, 4mal aus amerikanischen Erden (Bodenprobe Nr. 25, 26, 27, 28), 1mal aus einem mit Zucker versetzt gewesenen Boden des botanischen Gartens in Hamburg (Bodenprobe Nr. 9).

3. Bacillus tumescens „Zopf".

Wiederholt in den Rohkulturen gefunden, isoliert aus Bodenprobe Nr. 50 (Seesand vom Strande bei Rossitten, Ostpr.)

4. Bacillus fusiformis „A. Meyer et Gottheil".

3mal isoliert, je 1mal aus Bodenprobe Nr. 15 (Ackerboden von Reitzenstein, Grenzmark), Nr. 21 (Melonenfeld bei Meadi, Kairo) und Nr. 50 (Seesand vom Strande bei Rossitten, Ostpr.).

5. Bacillus simplex „A. Meyer et Gottheil".

1mal isoliert aus Bodenprobe Nr. 43 (Sand der Wüste östl. Kairo, Wadi-Hof).

b) Schlechte Buttersäureabbauer:

6. Bacillus vulgatus („Flügge, Migula").

2mal isoliert aus Bodenprobe Nr. 8 (Botanischer Garten Hamburg) und Nr. 35 (Ütliberg, Schweiz).

Die Angaben über das Vorkommen genannter Arten in den verschiedenen Böden sind insofern nicht vollständig, als sehr häufig vorkommende nach Aussehen äußerlich als vermutlich identisch anzusprechende Kolonien nicht in allen Fällen von den Platten abgeimpft wurden, z. B. die typischen Kolonien des B. mycoides auch morphologisch typische Formen wie B. tumescens wurden nicht immer weiter vermehrt. Immerhin läßt sich sagen, daß besonders häufig der B. carotarum a gefunden wurde, ebenso verbreitet ist fraglos der B. tumescens und B. mycoides, während B. fusiformis, B. simplex und B. vulgatus seltener vorzukommen scheinen. Dieser Befund von dem Vorkommen ein und derselben Spezies in den heterogensten Böden und in den verschiedensten Klimaten, den Bredemann (1908 u. 1909) schon für B. asterosporus und B. amylobacter festgestellt hatte, zeigt wieder, daß wir es bei vielen Bodenbakterien infolge ihrer weiten Verbreitung mit echten Kosmopoliten zu tun haben.

Außer diesen bekannten Spezies wurden nun noch verschiedene Formen gefunden, die sich mit den in der Literatur beschriebenen Arten nicht identifizieren ließen, und zwar sowohl in der Gruppe der auf D-Agar wachsenden, als auch in der Gruppe der auf D-Agar nicht oder kaum gedeihenden Formen. Bevor deren nähere Beschreibung erfolgt, soll nachstehend kurz eine Charakteristik obengenannter bekannter Spezies auf Ca-n-Butyrat-Agar gegeben werden. Sie wird uns zeigen, daß die Arten auf diesem Nährboden in vielen charakteristischen Merkmalen von denen auf D-Agar abweichen. Augenscheinlich macht sich der Einfluß des Ca-n-Butyrats besonders auf die Sporen

[1]) Verzeichnis der untersuchten Erden siehe Bredemann und Werner (1932. S. 484).

bemerkbar, die auf dem neuen Nährboden meist kleiner sind, als auf D-Agar, doch ist der Einfluß bei den verschiedenen Spezies fraglos verschieden stark. Auch die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen ist meist geringer geworden, dafür die Minima der Sauerstoffspannung für die Sporenkeimung höher.

B. Schon in der Literatur beschriebene und als identisch erkannte Spezies, die häufiger gefunden wurden, unter besonderer Berücksichtigung ihrer Variabilität auf Ca-n-Butyrat-Agar.

a) Gute Buttersäureabbauer.

1. Bacillus carotarum a „Stapp".

Sporengröße der einzelnen Stämme auf Ca-n-Butyrat-Agar. Daß sich bei den 12 isolierten Stämmen Schwankungen in der Sporengröße ergeben würden, war vorauszusehen, doch hielten sie sich innerhalb nur sehr geringer Grenzen. Die Sporen waren auf Ca-n-Butyrat-Agar meist 1,4 bzw. 1,5 μ lang und 0,6—0,8 μ breit, die größten waren 2 μ lang und 1,1 μ breit, die kleinsten 1 μ lang und 0,4 μ breit, im Durchschnitt betrug die Länge 1,33—1,46 μ, die Breite 0,61—0,82 μ. Der von Stapp (1920, 55—64) auf ⅓ D-Eiweiß-Agar mit 0,1% Natriumkarbonat-Zusatz gezogene B. carotarum a hatte eine Sporengröße zwischen 0,6—1,2 μ Breite und zwischen 1—2,2 μ Länge; die meisten Sporen waren 1,8 μ lang und 0,8 μ breit. Das Ca-n-Butyrat hat also auf die Sporengröße verkleinernd gewirkt.

Die Untersuchung der Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien ergab hinsichtlich der Intensität des Wachstums eine außerordentlich gute Übereinstimmung mit den von Stapp für seinen Stamm angegebenen Zahlen. Ein Unterschied besteht lediglich bei den Nährlösungen XV und XV a, in denen Bacillus carotarum a nicht wächst, während meine Stämme Wachstum zeigen (Intensität 2 bzw. 2—3). Dies ist jedoch bedeutungslos, wenn man den Unterschied betrachtet, der zwischen B. carotarum und B. carotarum a besteht. Eine wirklich bedeutungsvolle Abweichung von B. carotarum a und meinen Stämmen besteht in der bei einigen meiner Stämme stattfindenden Schwärmfähigkeit, die bisher weder für B. carotarum noch für B. carotarum a jemals festgestellt worden ist.

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag bei den meisten Stämmen zwischen 0,8 und 1 mg Sauerstoff im Liter, bei Stamm „Antilibanon" zwischen 0,1 und 0,6, bei Stamm „Reitzenstein" zwischen 1,0 und 4 mg. Wund (1906) gibt für B. carotarum 6,8 mg an.

Das Maximum der Sporentötungszeit bei 100° lag bei den einzelnen Stämmen zwischen 3 und 4 Min. Die Sporen scheinen also durch den Ca-n-Butyrat-Agar in ihrer Resistenz gegen Hitze geschädigt worden zu sein. Es ist mir aufgefallen, daß am Anfang der zirka 2jährigen Versuchsdauer, als die Stämme erst verhältnismäßig kurze Zeit in Kultur waren, die Sporentötungszeiten höher lagen, und zwar zwischen 4 und 5 Min., z. T. auch zwischen 6 und 7 Min., d. h. daß sie im Anfang in der Nähe der für B. carotarum charakteristischen Sporentötungszeit lagen.

Außer Ca-n-Butyrat baut der B. carotarum a die Ca-Salze der Ameisen-Essig-Baldrian-Capron-Capryl- und Milchsäure ab, nicht die der

Propionsäure. Der B. carotarum verhält sich ähnlich, baut aber ebenfalls Ca-Propionat, nicht dagegen Ca-Caprylat ab.

2. Bacillus mycoides „Flügge".

Nachfolgender Beschreibung liegt der Stamm „Hamburg" zugrunde.

Sporengröße auf Ca-n-Butyrat-Agar:

Länge:	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8	1,9	2,0	2,2 μ
	5	6	6	11	35	12	10	4	5	2	3	1 %

Breite:	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,25 μ
	1	5	12	31	21	25	3	1	1 %

Die Sporen sind also auf Ca-n-Butyrat-Agar meist 1,5 μ lang und 0,8 μ breit, die größten 2,2 μ lang und 1,25 μ breit, die kleinsten 1,2 μ lang und 0,6 μ breit, was einer mittleren Länge von 1,53 μ und einer mittleren Breite von 0,87 μ entspricht. Migula (1900, 539) gibt für B. mycoides folgende Werte an: Länge 1,3—1,48 μ; Breite 0,74—0,9 μ. Bei Gottheil (1901, 628) finden sich folgende Angaben: Länge 1,4—2,2 μ, Breite 0,83 μ. Weitere sehr genaue Untersuchungen über B. mycoides verdanken wir Holzmüller (1909), der für Stämme verschiedener Herkunft, gezogen auf Bouillon-Agar (1,0 Agar in 100,0 Bouillon), bzw. Bouillon-Gelatine (8,0 Gelatine in 100,0 Bouillon) unter Zusatz von Soda bis zur neutralen oder schwach alkalischen Reaktion, folgende Werte angibt:

Aus dem Blinddarm des gesunden Meerschweinchens isoliert	B. mycoides α (309) Länge: 1,5—1,8 μ, Breite: 0,85—1,12 μ B. mycoides β (315) Länge: 1,67—1,93 μ, Breite: 0,94—1,56 μ
Aus dem Darm des Mehlwurms isoliert	B. mycoides δ (317) Länge: 1,25—1,65 μ, Breite: 0,58—0,89 μ
Aus Erde isoliert	B. mycoides δ (319) Länge: 1,73—2,34 μ, Breite: 0,70—1,22 μ
Von Král bezogen	B. mycoides „Flügge" (321) Länge: 1,4—2,4 μ, Breite: 0,83 bis 0,91 μ

Man ersieht hieraus, daß der Ca-n-Butyrat-Agar keinen wesentlichen Einfluß auf den B. mycoides ausgeübt hat, denn die von mir gefundenen Größenmessungen stimmen mit denen der anderen Autoren gut überein. Das Maximum der Sporentötungszeit lag zwischen 8 und 9 Min. Der Bazillus entwickelt sich auf Ca-n-Butyrat-Agar vollkommen normal und bildet auch Fett als Reservestoff. Er baut außer Ca-n-Butyrat auch die Ca-Salze der Ameisen-, Essig-, Propion-, Baldrian-, Capron-, Capryl- und Milchsäure ab.

3. Bacillus tumescens „Zopf".

Sporengröße auf Ca-n-Butyrat-Agar:

Länge:	1,1	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8	1,9	2,0	2,3 μ
	1	4	2	11	24	18	7	17	5	6	4	1 %

Breite:	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2 μ
	15	27	29	23	5	1 %

Die Sporen sind also auf Ca-n-Butyrat-Agar meist 1,5—1,75 μ lang und 0,8—1 μ breit, die größten 2,3 μ lang und 1,2 μ breit, die kleinsten 1,1 μ lang und 0,75 μ breit, was einer mittleren Länge von 1,6 μ und einer mitt-

leren Breite von 0,88 μ entspricht. Vergleicht man hiermit die Angaben, die Gottheil (1901, 492—495) von seinem Originalstamm auf D-Agar macht — durchschnittlich 1,7—2 μ breit und 2,5—3 μ lang —, so sieht man, daß die Sporen auf Ca-n-Butyrat-Agar ganz bedeutend kleiner sind. Auch Garbowski (1907, 20) fand bei Untersuchungen über chemische Abschwächungsmittel (Phenol, Kaliumbichromat, Kupfersulfat), ausgeführt an B. luteus und B. tumescens, eine Herabsetzung der Sporengröße.

Der Bazillus entwickelt sich sonst auf Ca-n-Butyrat-Agar vollkommen normal und bildet auch hier genau so wie auf Dextrose-Agar Fett als Reservestoff.

Die Untersuchung der Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien ergab hinsichtlich der Intensität des Wachstums eine sehr gute Übereinstimmung mit den bei Gottheil für seinen Stamm angegebenen Zahlen. In bezug auf Säure- und Alkalibildung waren jedoch kleine Unterschiede festzustellen.

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag bei meinem Stamm bei 0,8 mg Sauerstoff im Liter, bei dem Gottheilschen Stamm beträgt es nach Wund (1906, 680) 9,4, hier ist also ein wesentlicher Unterschied festzustellen, der vielleicht auf den Einfluß des Nährbodens zurückzuführen ist.

Das Maximum der Sporentötungszeit lag bei meinem Stamm zwischen 2 und 4 Min. Gottheil gibt für seinen Originalstamm 4—4½ Min. an. Auch hier ist wieder ein wahrscheinlich durch den Einfluß des Ca-n-Butyrats bedingter Unterschied zwischen den beiden Stämmen festzustellen.

Außer Ca-n-Butyrat baut der B. tumescens die Ca-Salze der Ameisen-, Essig-, Baldrian-, Capron-, Capryl- und Milchsäure ab, auffälligerweise nicht das Ca-Propionat.

4. Bacillus fusiformis „A. Meyer et Gottheil".

Sporengröße der einzelnen Stämme auf Ca-n-Butyrat-Agar. Die runden Sporen haben auf Ca-n-Butyrat-Agar meist einen Durchmesser von 0,75—0,8 μ, die größten einen solchen von 1,2 μ und die kleinsten von 0,5 μ. Gottheil (1901, 724—727) gibt für seinen B. fusiformis auf D-Agar einen Durchmesser von 1,3—1,8 μ an; also auch hier sind auf Ca-n-Butyrat-Agar wieder bedeutend kleinere Sporen ausgebildet worden.

Die Untersuchung der Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien ergab eine gute Übereinstimmung mit den von Gottheil für seinen Stamm angegebenen Zahlen. Hinsichtlich der Alkali- und Säurebildung waren geringe, aber unwesentliche Unterschiede festzustellen.

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag bei Stamm „Meadi" zwischen 0,2 und 0,9 mg, bei Stamm „Reitzenstein" ungefähr bei 0,9 mg und bei Stamm „Rossitten" zwischen 1 und 1,4 mg, der für B. fusiformis von Wund (1906, 680) angegebene Wert liegt bei 6,8 mg Sauerstoff; hier besteht also ein ganz deutlicher Unterschied.

Das Maximum der Sporentötungszeit bei 100,0 lag bei den Stämmen „Reitzenstein" und „Rossitten" zwischen 1 und 2 Min., bei dem Stamm „Meadi" ungefähr bei 3 Min. Auch bei diesem Bazillus

scheinen die Sporen durch das Ca-n-Butyrat in ihrer Resistenz gegen Hitze geschädigt zu sein, denn die Sporentötungszeit liegt sonst zwischen 4 und 4½ Min.

Außer Ca-n-Butyrat baut der B. fusiformis die Ca-Salze der Ameisen-, Essig-, Propion- und Milchsäure gut ab. Nicht Ca-Valerianat und Ca-Caprylat, sehr schwach Ca-Capronat.

5. Bacillus simplex „A. Meyer et Gottheil".

Sporengröße auf Ca-n-Butyrat-Agar:

Länge:	1	1,1	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,75	1,9 μ
	5	4	17	10	23	29	8	3	1 %

Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1 μ
	7	14	5	40	27	5	2 %

Die Sporen haben also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl eine Länge von 1,4—1,5 μ, und eine Breite von 0,75 μ, die größten sind 1,9 μ lang und 1 μ breit, die kleinsten 1 μ lang und 0,5 μ breit, was einer mittleren Länge von 1,39 μ und einer mittleren Breite von 0,74 μ entspricht. Gottheil (1901, 685—689) gibt für seinen Stamm eine Breite von 0,83 μ und eine Länge von 1,39—1,7 μ an, ganz vereinzelt 2,2 μ. Wir haben also auch hier wieder eine Verringerung der Sporengröße auf Ca-n-Butyrat-Agar. Bemerkenswert ist, daß sich der Einfluß bei den verschiedenen Arten recht verschieden äußert, bei B. mycoides ist er am geringsten oder überhaupt nicht vorhanden, bei B. fusiformis tritt er dagegen sehr stark in Erscheinung.

Die Untersuchung der Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien ergab nur in Nährlösung III einen wesentlichen Unterschied zwischen der von Gottheil für seinen Stamm angegebenen Wachstumsintensität (0,1) und meinem Stamm „Wadi-Hof" (3,0).

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag bei meinem Stamm zwischen 9 und 10 mg Sauerstoff im Liter, der entsprechende Wert für den Gottheilschen Stamm beträgt 6,8 (Wund 1906, 680).

Das Maximum der Sporentötungszeit bei 100° liegt bei dem Gottheilschen Stamm zwischen 3½ und 4 Min., bei meinem Stamm zwischen 4 und 5 Min.

Außer Ca-n-Butyrat baut der B. simplex auch die Ca-Salze der Ameisen-, Essig-, Propion-, Baldrian-, Capron-, Capryl- und Milchsäure ab.

b) Schlechte Buttersäureabbauer.

6. Bacillus vulgatus (Flügge) „Migula".

Sporengröße auf Ca-n-Butyrat-Agar:

Länge:	0,9	1	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8 μ
St. Ütliberg:	—	2	3	8	10	12	20	27	8	3	3	4 %
St. Hamburg:	1	10	12	9	14	10	18	16	5	2	3	— %

Breite:	0,4	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9 μ
St. Ütliberg:	3	15	29	13	29	10	1 %
St. Hamburg:	3	39	40	13	3	2	— %

Die Sporen sind also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl 1,4—1,5 μ lang und 0,5—0,75 μ breit, die größten sind 1,8 μ lang und 0,9 μ breit, die

kleinsten 0,9 μ lang und 0,4 μ breit, was bei Stamm „Ütliberg" einer mittleren Länge von 1,42 μ und einer mittleren Breite von 0,66 μ und beim Hamburger Stamm von 1,31 und 0,57 μ entspricht. Da ich in der Literatur keine Größenmessungen über die Sporen von B. vulgatus gefunden habe, fehlen mir die Vergleichsmöglichkeiten. Die Sporen schwellen vor der Keimung an und keimen nach ungefähr 5 Std. äquatorial aus.

Die austretenden Keimstäbchen beginnen fast gleich zu schwärmen und sind meist 2—3 μ lang und 0,8—1 μ breit. Die entsprechenden Werte bei Lehmann-Neumann (1927, 615) sind 1,6 bis 5,0 μ für die Länge und 0,8 μ für die Breite. Es scheint also, daß das Ca-n-Butyrat keinen Einfluß auf die Größenverhältnisse des Bazillus ausübt. Das Verhalten der Spezies den organischen Säuren gegenüber (auf Agar der entsprechenden Ca-Salze) ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

Agar:	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum St. Ütliberg	gut	gut	gut	gut	schw.	gut	0 (fast nicht)	gut
Wachstum St. Hamburg	„	„	„	„	„	„		„
$CaCO_3$-Kristallausscheidung beginnt n. Tagen:								
St. Ütliberg	1—2	1—2	28 (s. schw.)	4 (schw.)	0	28 (s. schw.)	0	4
St. Hamburg	1—2	1—2	14 (schw.)	0	0	28 (s. schw.)	0	2

Auch für die beiden jetzt folgenden Angaben fehlen mir Vergleichsmöglichkeiten, sie seien deshalb lediglich der Vollständigkeit halber erwähnt. So wurde gefunden für das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung 0,4—0,6 mg und für das Maximum der Sporentötungszeit bei 100° 4—5 Min.

C. Neue Spezies.

I. Gruppe der auf ⅓ Dextrose-Fleischextrakt-Pepton-Agar wachsenden Arten.

a) Gute Buttersäureabbauer.

1. Bacillus rarus „Bredemann et Werner".

(Tafel I, Figur 1.)

Diese Spezies wurde aus der Erdprobe Nr. 42 isoliert, einem Waldboden ca. 30 cm tief auf dem Predigtstuhl bei Reichenhall steril entnommen. Er wächst sowohl auf ⅓ D-Agar als auch auf Ca-n-Butyrat-Agar gut. Da es mir nicht möglich war, den Bazillus mit einem schon in der Literatur beschriebenen zu identifizieren, so glaube ich, daß es sich um eine neue Art handelt, die allerdings verhältnismäßig selten zu sein scheint, denn sie wurde nur ein einziges Mal isoliert.

Morphologische Untersuchungen der Morphoden.

Die Sporen sind im allgemeinen ellipsoid bis eiförmig. Sie keimen unter Anschwellung bei 28° nach ungefähr 7 Std. auf Ca-n-Butyrat-Agar. Die Keimung erfolgt meist äquatorial, doch kommt auch polare und seit-

lich polare Keimung vor. Die in Wasser gezeichneten Sporen zeigten ungefärbt folgende Größen:

Länge:	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8	1,9	2,0	2,1 μ
	2	1	4	3	8	21	22	7	9	12	5	5	1 %
Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,25 μ				
	1	6	3	30	34	13	11	1	1 %				

Die Sporen sind also auf Ca-n-Butyrat-Agar meist 1,5 oder 1,6 μ lang und 0,8 μ breit. Die Länge schwankt zwischen 1,1 und 2,1 μ, die Breite zwischen 0,5 und 1,25 μ; die mittlere Länge beträgt 1,61 μ, die mittlere Breite 0,81 μ.

Die Keimstäbchen werden auf Ca-n-Butyrat-Agar meist bis 10 μ lang und 1,25 μ breit, jedoch kommen auch solche bis zu 15 μ Länge vor. In der Regel bleiben die Oidien nach der Teilung zusammen und wachsen zu langen, ungleich septierten Fäden aus; ein Bild, welches sich nach ungefähr 15 Std. bei 28° ergibt, während sich im Kondenswasser zu dieser Zeit lebhafte Schwärmer finden. Nach 45 Std. entwickeln sich aus den angeschwollenen Oidien die ersten Sporangien, die nach der Reife eine meist spindelförmige, seltener eine stäbchenförmige Gestalt annehmen und deren Länge zwischen 2,5 und 4 μ schwankt; die Breite beträgt meist 1,6 μ. Die Spore liegt entweder zentral oder ist dem Pol zugekehrt.

Reservestoffbildung konnte weder auf Ca-n-Butyrat noch auf ⅓ D-Agar nachgewiesen werden.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte zeigt die Einzelkolonie bei mikroskopischer Betrachtung eine schöne gefranste, an Eisblumen erinnernde Randzone, die außerordentlich charakteristisch ist. Bei der Ca-n-Butyrat-Agar-Stichkultur gehen vom Stichkanal parallel angeordnete, plattenförmige Wachstumszonen aus. Die Oberflächenkolonie ist graubraun, fettglänzend, nicht erhaben und hat eine gelappte Randzone. Der Bazillus wächst nur ca. 1½ cm im Stich.

Die Angreifbarkeit der Ca-Salze der verschiedenen organischen Säuren auf Agar ist unter besonderer Berücksichtigung der Zeit ihres Abbaus (erstes deutliches Erscheinen von $CaCO_3$-Kristallen) aus folgender Tabelle ersichtlich:

Agar:	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum	gut	gut	gut	gut	0	gut	gut	gut
Abbau beginnt nach Tagen	1—2 (s. stark)	1—2 (s. stark)	4	4	0	6 (schw.)	21 (s. schw.)	6

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0	I—Ib	II	III	IIIa	IV	V	Va	Vb	Vc	Vd	VI
Intensität des Wachstums:	1	2	3—4	2—3	3	0	2	2	0	0	2	1—2

	VIa	VII—IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV—XVI
	2	0	3—4	0	2	2	1—2	1

Alkali wird gebildet in den Nährlösungen 0, I, Ia, Ib, III. Säure wird gebildet in den Nährlösungen VI, VIa, XV, XVa.

Auf steriler Kartoffelscheibe zeigt sich nach 1—2 Tagen ein dünner, brauner, glänzender Überzug, der nach 4 Wochen als schleimiger Belag die ganze Kartoffel überzieht und gegen Lackmus alkalisch reagiert.

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag zwischen 0,8 und 1 mg Sauerstoff im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 5 und 6 Min.

Chemische Leistungen: Phenol, Indol, Katalase (Nährl. XIII) werden nicht gebildet; Neutralrot und Methylenblau nicht reduziert. Schwefelwasserstoff, Ammoniak (Nährl. VII b) und Nitrit (VII und VII b) waren nachzuweisen.

Gelatineverflüssigung: Erst nach 4 Wochen zeigt sich an der Einstichstelle eine erbsengroße Verflüssigungszone.

2. Bacillus montanus „Bredemann et Werner".

(Tafel I, Figur 2.)

Diese Art wurde ebenso wie B. rarus aus der gleichen Erdprobe Nr. 42 isoliert, die vom Predigtstuhl bei Reichenhall stammt. Auch sie wurde nur ein einziges Mal gefunden und konnte mit keiner in der Literatur schon beschriebenen identifiziert werden. Sie wächst ebenfalls sowohl auf ⅓ D-Agar als auch auf Ca-n-Butyrat-Agar gut.

Morphologische Untersuchungen der Morphoden.

Die Sporen sind meist ellipsoid, z. T. auch eiförmig, seltener rund. Sie keimen auf Ca-n-Butyrat-Agar bei 28° meist nach ungefähr 9 Std. Die in Wasser gezeichneten Sporen zeigten folgende Größen:

Länge:	1	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,75	1,8	1,9	2	2,5	µ
	5	12	14	7	12	19	19	4	1	2	2	2	1	%

Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1	1,1	µ
	3	8	9	13	38	15	13	1	%

Die Sporen haben also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl eine Länge von 1,4 bzw. 1,5 µ und eine Breite von 0,8 µ. Die größten sind 2,5 µ lang und 1,1 µ breit, die kleinsten 1 µ lang und 0,5 µ breit; die mittlere Länge beträgt 1,37 µ, die mittlere Breite 0,8 µ.

Die Keimstäbchen scheinen sofort nach der Keimung zu schwärmen, denn man findet sie während der Keimzeit schon im Kondenswasser in lebhafter Bewegung. Sie haben eine Länge von 2,5—10 µ bei einer Breite von 0,8—1 µ. Nach 30 Std. entwickeln sich bei 28° aus den angeschwollenen Oidien die ersten Sporangien, die nach ihrer Reife trommelschläger- oder spindel-, seltener stäbchenförmige Gestalt haben. Der mannigfaltigen Gestaltung der Sporangienform entspricht eine recht unterschiedliche Größe.

Reservestoffbildung konnte weder auf Ca-n-Butyrat-Agar noch auf ⅓ Fleischextrakt-Pepton-Dextrose-Agar nachgewiesen werden.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte bilden die Kolonien besonders nach längerer Zeit stark zerklüftete, braune Erhebungen. Bei mikroskopischer Betrachtung zeigt sich eine schön verzweigte Randzone.

Im Ca-n-Butyrat-Agarstich findet nur zartes, schlingen-

förmiges Wachstum statt, die Oberflächenkolonie ist auch hier braun und hat einen matten, hellen, schleimigen Rand.

Angreifbarkeit der Ca-Salze organischer Säuren auf Agar:

Agar:	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum	gut	gut	gut	gut	schw.	gut	gut	gut
Abbau beginnt n. Tagen	1—2 (s. stark)	1—2 (s. stark)	4	4	0	6 (s. stark)	21 (gut)	2 (gut)

Wir haben in Bacillus montanus somit einen sehr guten Abbauer vor uns, der außer der Baldriansäure, auf der er kaum wächst und der Caprylsäure, die er erst nach 21 Tagen abbaut, schnell die übrigen untersuchten Fettsäuren und auch Milchsäure angreift. Ob er allerdings in der Natur eine große Rolle spielt, muß dahingestellt bleiben, da er nur ein einziges Mal isoliert wurde.

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0	I	Ia	Ib	II	III	IIIa	IV	V—VIa	VII
Intensität des Wachstums:	3—4	3	2—3	2—3	3—4	1—2	3—4	1	2	0—1

VIIa	VIIb	VIII—IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVa	XVI
1—2	0—1	0	3—4	0	1—2	2—3	1	1—2	1	2

Alkali wird gebildet in den Nährlösungen 0, III, IV, V d und XVI, Säure wird gebildet in den Nährlösungen VI, VI a und XV a.

Auf steriler Kartoffelscheibe bildet der B. montanus einen gelbbraunen Belag, der gegen Lackmus alkalisch reagiert. Bei mikroskopischer Betrachtung der Kultur findet man kräftige Schwärmer, die erst sehr spät Sporen bilden. Die Sporangien sind auf Kartoffeln meist spindelförmig.

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag zwischen 2 und 3 mg Sauerstoff im Liter.

Die Ermittlung des Maximums der Sporentötungszeit bei 100° ergab die interessante Zeit von 8—10 Std. Weil diese hohe Sporentötungszeit die Vermutung aufkommen lassen konnte, daß vielleicht ein thermophiler Bazillus vorlag (er wuchs allerdings bei 28° gut und wurde immer bei dieser Temperatur gezogen), so wurden verschiedene Versuche unternommen, ihn bei 50—60° zum Wachstum zu bringen, jedoch mit vollkommen negativem Erfolg.

Chemische Leistungen: Phenol und Indol werden nicht gebildet, Methylenblau und Neutralrot nicht reduziert. Schwefelwasserstoff, Ammoniak (Nährl. VII b), Nitrit (Nährl. VII, VII a, VII b) und Katalase (Nährl. XIII) waren nachzuweisen.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird außerordentlich langsam, zylinderförmig verflüssigt, im Stich findet kein Wachstum statt.

3. Bacillus aegyptiacus „Bredemann et Werner".

(Tafel I, Figur 3.)

Diese Art wurde aus Erdprobe Nr. 32 isoliert, die aus einem Bewässerungsgraben bei Heluan (Ägypten) steril entnommen war. Er wurde ebenso nur ein einziges Mal gefunden und konnte mit keinem in der Literatur schon

beschriebenen identifiziert werden. Die Art wächst sowohl auf D-Agar, als auch auf Ca-n-Butyrat-Agar gut.

Morphologische Untersuchungen der Morphoden.

Die Sporen sind meist ellipsoid bis eiförmig. Sie keimen meist erst nach 18—20 Std. unter Anschwellung bei 28° auf Ca-n-Butyrat-Agar. In der Mehrzahl der Fälle erfolgt die Keimung äquatorial, doch kommt auch polare bzw. seitlich-polare Keimung vor. Die in Wasser gezeichneten Sporen zeigten folgende Größen:

Länge:	1	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8	2 μ
	4	7	9	12	14	16	23	6	4	3	1	1 %

Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0	1,2 μ
	4	3	15	21	39	10	7	1 %

Die Sporen haben also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl eine Länge von 1,5 μ und eine Breite von 0,8 μ. Die größten sind 2 μ lang und 1,2 μ breit, die kleinsten 1 μ lang und 0,5 μ breit; die mittlere Länge beträgt 1,38 μ, die mittlere Breite 0,79 μ.

Die Keimstäbchen haben auf Ca-n-Butyrat-Agar meist eine Länge von 2—4 μ bei einer Breite von 0,6—0,8 μ. Die Oidien befinden sich schon während der Keimzeit vor allem im Kondenswasser als Einzel- und Doppelschwärmer und es kommt nicht zur Ausbildung von langen Zellfäden. Nach ungefähr 2 Tagen entwickeln sich aus den angeschwollenen Ruhestäbchen oft unter Bildung von stark lichtbrechenden Körnern im Plasma die ersten Sporangien, die nach der Reife spindelförmige Gestalt haben. Stäbchenförmige Sporangien kommen vor, sind jedoch selten. Die Länge der Sporangien schwankt zwischen 3 und 5 μ, ihre Breite liegt bei ungefähr 1 μ, die Spore liegt meist zentral, seltener ist sie dem Pol zugekehrt.

Reservestoffbildung konnte bei B. aegyptiacus auf Ca-n-Butyrat- und ⅓ D-Agar nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden, obwohl einige der stark lichtbrechenden Körner mit Sudan eine leichte Gelbfärbung ergaben. Es dürfte sich um Fett handeln, denn auch auf Kartoffel (siehe unten) wird Fett gespeichert.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Auf der Ca-n-Butyrat-Agar-Platte wächst B. aegyptiacus schleierartig, bald die ganze Oberfläche überziehend.

Das Wachstum im Ca-n-Butyrat-Agarstich findet nur eben unter der Oberfläche schlingenartig statt, auch hier wird keine Oberflächenkolonie gebildet, sondern ein Bakterienschleier, der mit braunen Pünktchen durchsetzt ist (Bildung von Sekundärkolonien).

Angreifbarkeit der Ca-Salze organischer Säuren auf Agar:

Agar:	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum	gut	gut	gut	gut	0	0	f. nicht	gut
Abbau beginnt n. Tagen	1—2 (s. stark)	1—2 (s. stark)	4	4	0	0	0	60

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0	I	Ia	Ib	II	III	IIIa	IV	V	Va	Vb	Vc	Vd	VI
Intensität des Wachstums:	4	4	0	4	0	3—4	3—4	1	3	0	0	1	2—3	1

VIa	VII—IX	XII	XIII	XIV	XV	XVa	XVI
1—2	0	1	2	2	1	0—1	1

Alkali wird gebildet in den Nährlösungen 0, I, Ib, III—V, Vc, Vd und XVI. Säure wird gebildet in den Nährlösungen VI, VIa, XV und XVa.

Auf steriler Kartoffelscheibe wächst der B. aegyptiacus mit gelblich-weißem Belag, der gegen Lackmus alkalisch reagiert. Bei mikroskopischer Betrachtung der Kultur findet man kleine Stäbe, die Fetttropfen gespeichert haben.

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag zwischen 3 und 4 mg Sauerstoff im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 20 und 25 Min.

Chemische Leistungen: Schwefelwasserstoff, Phenol, Indol und Katalase werden nicht gebildet, Neutralrot und Methylenblau nicht reduziert. Ammoniak (Nährl. VII b) und Nitrit (Nährl. VII, VII a, VII b) waren in Spuren nachzuweisen.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird schnell, trichterförmig verflüssigt; an der Oberfläche der Verflüssigungszone bildet sich eine Kahmhaut.

4. Bacillus terrestris „Bredemann et Werner".

(Tafel I, Figur 4.)

Diese Spezies wurde zweimal isoliert, einmal aus Bodenprobe 10 (Teichschlamm des Hamburger Botanischen Gartens) und aus Bodenprobe 13 (Saatzuchtwirtschaft Strassenheim).

Morphologische Untersuchung der Morphoden.

Die Sporen sind rund und keimen auf Ca-n-Butyrat-Agar bei 28° nach ca. 10 Std. Die in Wasser gezeichneten Sporen hatten folgende Größen:

Länge und Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	μ
St. Hamburg:	3	5	11	13	36	19	12	1	%
St. Strassenheim:	2	10	10	8	23	22	24	1	%

Die Sporen sind also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl bei dem Hamburger Stamm 0,8 μ, bei dem Strassenheimer Stamm 0,8—1 μ groß. Die größten Sporen sind bei beiden Stämmen 1,1 μ, die kleinsten 0,5 μ groß; die mittlere Größe beträgt bei Stamm Hamburg 0,8 μ, bei Stamm Strassenheim 0,83 μ.

Die Keimstäbchen haben auf Ca-n-Butyrat-Agar meist eine Länge von 4 μ und eine Breite von 1 μ. Nach 15 Std. findet man bei 28° vorwiegend Doppelschwärmer, nach 40 Std. neben zahlreichen Schwärmern schon die ersten Sporangien von typischer Trommelschlägerform und ziemlich verschiedenen Größen.

Reservestoffe waren weder auf Ca-n-Butyrat- noch auf ⅓ D-Agar nachzuweisen.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Die Kolonien auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte sind glattrandig, leicht erhaben, grau-weiß; selten findet schleierartiges Wachstum statt.

Im Ca-n-Butyrat-Agarstich gehen vom Stichkanal starke plattenförmige Wachstumszonen aus.

Entwicklung auf verschiedenen Nährböden:

Agar:	⅓ D	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum	s. zart	s. zart	zart	0	zart	0	zart	gut	schw.
Abbau beginnt nach Tagen	—	60	1—2	0	7	0	8	21	0

Der B. terrestris kommt nur für den Abbau der Essig-, Butter-, Capron- und Caprylsäure in Frage, während die übrigen Fettsäuren entweder nicht oder nur schwach angegriffen werden.

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0	I	Ia	Ib	II	III	IIIa'	IV	V	Va—XII
Intensität des Wachstums:										
St. Hamburg:	1	1—2	1	1	1	1	1	0	0—1	0
St. Strassenheim:	1	0—1	1	0—1	0—1	0—1	1	0	1	0

Nährlösung:	XIII	XIV	XV—XVI
Intensität des Wachstums:			
St. Hamburg:	1—2	0—1	0
St. Strassenheim:	2	0	0

Alkali wird gebildet in den Nährlösungen 0—Ib und III; Säure wird nicht gebildet.

Auf steriler Kartoffelscheibe findet kein Wachstum statt.

Das Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung lag zwischen 0,2 und 0,9 mg im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 3 und 4 Min.

Chemische Leistungen: Schwefelwasserstoff wird gebildet. Phenol und Indol werden nicht gebildet, Neutralrot und Methylenblau nicht reduziert. Ammoniak (Nährl. VII b, St. Strassenheim), Nitrit (Nährl. VII, VII b, St. Strassenheim) und Katalase (Nährl. XIII) waren in Spuren nachzuweisen.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird langsam, zylinderförmig verflüssigt. Erst nach 4 Wochen betrug die Länge der Verflüssigungszone ca. 1—1½ cm.

b) Schlechte Buttersäureabbauer:

5. Bacillus Watzmannii „Bredemann et Werner".

(Tafel I, Figur 5.)

Diese Art wurde aus Erdprobe Nr. 38 isoliert, die vom Watzmann bei Berchtesgaden in einer Höhe von ca. 2712 m entnommen worden war.

Morphologische Untersuchung der Morphoden.

Die Sporen sind meist ellipsoid und zeichnen sich vor allen hier beschriebenen und noch zu beschreibenden Spezies dadurch aus, daß sie

außerordentlich groß sind. Sie schwellen vor der Keimung kaum an und keimen auf Ca-n-Butyrat-Agar bei 28° nach ca. 9 Std. sowohl polar als auch äquatorial.

Die in Wasser gezeichneten Sporen zeigten folgende Größen:

Länge:	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8	1,9	2	2,1	2,25	2,3	2,4	μ
	1	2	5	17	16	13	5	12	11	13	1	2	1	1	%

Breite:	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,25	1,4	1,5	μ
	2	12	14	41	15	9	4	2	1	%

Die Sporen haben also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl eine Länge von 1,5—2 μ und eine Breite von 1 μ. Die größten sind 2,4 μ lang und 1,5 μ breit, die kleinsten 1,25 μ lang und 0,75 μ breit; die mittlere Länge beträgt 1,73 μ, die mittlere Breite 1 μ.

Die Keimstäbchen haben auf Ca-n-Butyrat-Agar meist eine Länge von 3—8 μ und eine Breite von ca. 0,75 μ. Oft wachsen die Oidien jedoch zu ungleich septierten Fäden aus, die eine Länge von 20 und mehr μ erreichen können. Schon gleich nach der Keimung schwärmen einige Stäbchen, diese besitzen meist eine Länge von 5 μ bei einer Breite von 0,75 μ. Nach 50 Std. bei 28° entwickeln sich aus den angeschwollenen Ruhestäbchen die ersten Sporangien, die nach der Reife sehr mannigfaltige Gestalt und Größe haben. Die Trommelschlägerform herrscht vor, doch kommen auch spindelförmige, sehr selten stäbchenförmige Sporangien vor.

Reservestoffe waren weder auf Ca-n-Butyrat- noch auf ⅓ D-Agar nachzuweisen.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Die Kolonien auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte sind unscheinbar klein, leicht erhaben, fettglänzend und haben eine glatte Randzone.

Im Ca-n-Butyrat-Agarstich findet zartes, schlingenförmiges Wachstum statt, die Oberflächenkolonie wächst als zarte, schleierartige Auflage.

Entwicklung auf verschiedenen Nährböden:

Agar:	⅓ D	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum	zart	s. zart	schw.	0	zart	0	0	0	0
Abbau beginnt nach Tagen	—	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie ersichtlich, kommt B. Watzmannii für den Fettsäureabbau kaum in Frage, obwohl sich bei seiner Isolierung auf mehrwöchigen Ca-n-Butyrat-Agarplatten in den Kolonien selbst $CaCO_3$-Kristalle zeigten.

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0	I	Ia	Ib	II	III	IIIa	IV	V	V a	Vb	Vc	Vd
Intensität des Wachstums:	1	1	1	1—2	1	0	1	0	1	1—2	0	0	1

VI	VIa	VII—VIIb	VIII	VIIIa	IX	X	XI	XII	XIII	XIV—XVI
0	1—2	0—1	0	0	0—1	0—1	0	0	0—1	0

In sämtlichen Nährlösungen, in denen Wachstum stattfand, war die Reaktion gegen Lackmus sauer, mit Ausnahme der Nährlösung XIII, die neutrale Reaktion zeigte.

Auf steriler Kartoffelscheibe bildet der B. Watzmannii nach einigen Tagen einen schwach braunen, äußerst zarten Belag, der gegen Lackmus sauer reagiert. Bei mikroskopischer Betrachtung findet man schöne, gesunde Stäbe und Schwärmer.

Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung: zwischen 0,2—0,9 mg Sauerstoff im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 5 und 8 Min.

Chemische Leistungen: Schwefelwasserstoff, Phenol, Indol und Katalase werden nicht gebildet, Neutralrot und Methylenblau nicht reduziert. Ammoniak (Nährl. VII b) und Nitrit (Nährl. VII und VII b) konnten nachgewiesen werden.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird langsam, zylinderförmig verflüssigt, im Stichkanal keine Astbildung.

6. Bacillus orae „Bredemann et Werner".

(Tafel II, Figur 6.)

Diese Art wurde aus Bodenprobe 51 (Sand vom Sylter Watt) isoliert und wurde ebenso wie die vorher beschriebene nur einmal gefunden.

Morphologische Untersuchung der Morphoden.

Die Sporen sind meist ellipsoid, seltener eiförmig und keimen auf Ca-n-Butyrat-Agar bei 28° nach ca. 10—16 Std. unter vorheriger starker Anschwellung äquatorial aus. Die in Wasser gezeichneten Sporen hatten folgende Größen:

Länge:	0,8	1,0	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8	1,9	2 μ
	2	8	7	7	7	9	17	18	10	5	4	2	2	2 %

Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0 μ
	9	21	24	27	14	4	1 %

Die Sporen haben also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl eine Länge von 1,4 bzw. 1,5 μ, bei einer Breite von 0,7 bzw. 0,75 μ. Die größten sind 2 μ lang und 1 μ breit, die kleinsten 0,8 μ lang und 0,5 μ breit; die mittlere Länge beträgt 1,4 μ, die mittlere Breite 0,7 μ.

Die Keimstäbchen schwärmen sofort nach der Keimung und man findet, vor allem im Kondenswasser, lebhafte Einzel- und Doppelschwärmer von 2,5—6 μ Länge und 0,8—1 μ Breite, die wenig Neigung zur Zellkettenbildung zeigen. Die Entwicklung der Spezies auf Ca-n-Butyrat-Agar ist außerordentlich schwach und es kommt erst nach mehreren Tagen unter Anschwellung der Oidien zur Sporangienbildung. Die Sporangien haben nach ihrer Reife spindelförmige Gestalt.

Reservestoffe waren weder auf Ca-n-Butyrat noch auf ⅓ D-Agar nachzuweisen.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Die Ca-n-Butyrat-Agarplatte überzieht der Bazillus mit einem hauchzarten Schleier; Einzelkolonienbildung kommt selten vor.

Im Ca-n-Butyrat-Agarstich kommt es im ganzen Stichkanal zu zartem, schlingenförmigem Wachstum. Die Oberfläche der Stichkultur ist auch hier mit einem hauchzarten Schleier bedeckt, der von der Agarfarbe kaum zu unterscheiden ist.

Entwicklung auf verschiedenen Nährböden:

Agar:	⅓ D	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum	s. zart	s. zart	zart	f.nicht	s. zart	0	0	0	zart
Abbau beginnt nach Tagen	—	0	6	0	0	0	0	0	0

Der Bacillus orae kommt also für den Fettsäureabbau kaum in Frage, denn außer der Essigsäure, die in verhältnismäßig kurzer Zeit, und der Buttersäure, die erst sehr spät angegriffen werden, kommt es bei den übrigen untersuchten Fettsäuren zu keinem Abbau.

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0	I	Ia—II	III	IIIa	IV	V	Va	Vb	Vc	Vd
Intensität des Wachstums:	1—2	1—2	1	0	1—2	0	0—1	0—1	0	0	0—1

VI	VIa—XII	XIII	XIV	XV	XVa	XVI
0	0	1	2	0—1	0	0

Säure wird gebildet in den Nährlösungen 0—II, III a, V a. Alkali wurde nicht gebildet.

Auf steriler Kartoffelscheibe wächst der B. orae äußerst langsam, eine Eigenschaft, die er auch auf allen anderen Nährmedien zeigt. Erst nach ca. 1 Monat bildet sich ein mattglänzender, schwefelgelber Belag, der gegen Lackmus sauer reagiert. Bei mikroskopischer Betrachtung findet man schöne, gesunde Stäbe bzw. Doppelstäbe.

Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung: zwischen 0,2—0,9 mg Sauerstoff im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 5 und 6 Min.

Chemische Leistungen: Phenol, Indol und Katalase waren nicht nachzuweisen, Neutralrot und Methylenblau werden nicht reduziert. Schwefelwasserstoff und Ammoniak (Nährl. VII b) wurden stark gebildet, Nitrit konnte nachgewiesen werden in den Nährlösungen VII und VII b.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird außerordentlich langsam verflüssigt, vom Stichkanal gehen zarte Astbüschel aus, die Oberflächenkolonie zeigt zarte Streifen.

II. Gruppe der auf ⅓ Dextrose-Fleischextrakt-Pepton-Agar nicht oder kaum, auf Ca-n-Butyrat-Agar dagegen gut wachsenden Arten.

Gute Buttersäureabbauer.

Alle jetzt zu besprechenden Arten sind durchweg außerordentlich gute buttersäurespaltende Organismen. Sie stehen sich sowohl morphologisch als auch biologisch sehr nahe, eine ihrer hervorstechenden Eigenschaften ist die, daß sie auf ⅓ D-Agar nicht, oder (wie die beiden Arten B. alpinus und B. firmus) nur kümmerlich gedeihen.

7. Bacillus alpinus „Bredemann et Werner".

(Tafel II, Figur 7.)

Diese Art wurde aus Bodenprobe 37 (Felsengeröll nahe der Regensburger Hütte, Dolomiten, ca. 2039 m hoch) isoliert.

Morphologische Untersuchung der Morphoden.

Die Sporen sind fast rund oder rund und keimen auf Ca-n-Butyrat-Agar bei 28° nach 8—10 Std. unter vorheriger Anschwellung sowohl polar als auch äquatorial. Von 160 Sporen waren 146 fast rund und 24 rund. Die fast runden in Wasser gezeichneten Sporen hatten folgende Größen:

Länge:	0,7	0,75	0,8	0,9	1	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6 μ
	2	2	11	6	32	15	16	3	4	5	3	1 %

Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2 μ
	2	5	9	19	34	15	12	3	1 %

Die Sporen sind also auf Ca-n-Butyrat-Agar meist 1 μ lang und 0,8 μ breit. Die größten sind 1,6 μ lang und 1,2 μ breit, die kleinsten 0,7 μ lang und 0,5 μ breit; die mittlere Länge beträgt 1,06 μ, die mittlere Breite 0,82 μ.

Die runden in Wasser gezeichneten Sporen hatten folgende Größen:

Durchmesser:	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2 μ
	8	13	38	8	21	8	4 %

Die Keimstäbchen haben auf Ca-n-Butyrat-Agar meist eine Länge von 3—6 μ bei einer Breite von 0,8—1 μ. Die Oidien schwärmen sofort nach der Keimung und man findet sie vor allem im Kondenswasser, meist als Einzel- oder Doppelschwärmer, seltener sind sie zu Zellketten vereinigt. Nach 48 Std. entwickeln sich bei 28° aus den Ruhestäbchen stäbchen- oder spindelförmige Sporangien.

Reservestoffbildung konnte weder auf Ca-n-Butyrat- noch auf ⅓ D-Agar nachgewiesen werden.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte bildet der B. alpinus grauweiße, kleine, leicht erhabene fettglänzende Einzelkolonien, die glattrandig sind.

Bei der Ca-n-Butyrat-Agarstichkultur gehen vom Stichkanal z. T. plattenförmige, meist jedoch schlingenförmige Ausläufer ab. Die Oberflächenkolonie färbt sich nach einiger Zeit stark braun und zeigt eine helle, schleimige Randzone.

Entwicklung auf verschiedenen Nährböden:

Agar:	⅓ D	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum . . .	f. nicht	gut	gut	gut	gut	0	0	0	f. nicht
Abbau beginnt nach Tagen .	—	1—2	1—2 (s. stark)	14 schw.	4	0	0	0	0

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0—IIIa	IV	V	Va	Vb	Vc	Vd	VI	VIa	VII
Intensität des Wachstums:	0—1	0	0—1	0—1	0	0	1	0	0	1

VIIa	VIIb	VIII—XI	XII	XIII	XIV	XV	XVa	XVI
0	0—1	0	1	2	0—1	0	0—1	0

Säure wird gebildet in den Nährlösungen 0—III a, V, V a und XV a, Alkali wird nicht gebildet.

Auf steriler Kartoffelscheibe wächst der Bazillus nicht.

Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung: zwischen 1 und 1,4 mg Sauerstoff im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 30 und 40 Min.

Chemische Leistungen: Schwefelwasserstoff, Phenol und Indol werden nicht gebildet; Neutralrot und Methylenblau werden nicht reduziert. Ammoniak (Nährl. VII b), Nitrit (Nährl. VII b) und Katalase (sehr stark) waren nachzuweisen.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird langsam, trichterförmig verflüssigt, vom Stichkanal gehen keine Ästchen aus.

8. Bacillus segetalis[1]) „Bredemann et Werner".

(Tafel II, Figur 8.)

Diese Art wurde in Bodenprobe 14 (Ackerboden der Saatzuchtwirtschaft Strassenheim) gefunden.

Morphologische Untersuchung der Morphoden.

Die Sporen sind meist ellipsoid, selten rund oder eiförmig und keimen auf Ca-n-Butyrat-Agar bei 28° nach 8—10 Std. unter vorheriger Anschwellung sowohl polar als auch äquatorial. Die in Wasser gezeichneten Sporen hatten folgende Größen:

Länge:	0,75	0,8	0,9	1	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8 μ
	1	1	2	22	14	17	7	7	9	14	3	1	1	1 %
Breite:	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0 μ							
	5	33	26	26	8	1	1%							

Die Sporen haben also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl eine Länge von 1 μ und eine Breite von 0,6 μ. Die größten sind 1,8 μ lang und 1 μ breit, die kleinsten 0,75 μ lang und 0,5 μ breit; die mittlere Länge beträgt 1,23 μ, die mittlere Breite 0,68 μ.

Die Keimstäbchen haben auf Ca-n-Butyrat-Agar eine durchschnittliche Länge von 2—6 μ, bei einer Breite von durchschnittlich 0,8 μ, doch kommen auch Stäbe von 30—40 μ Länge vor. Nach 48 Std. entstehen bei 28° aus den Ruhestäbchen Sporangien, die nach der Reife stäbchen- bis spindelförmige Gestalt haben.

Reservestoffbildung auf Ca-n-Butyrat-Agar konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte bilden sich kleine, grauweiße, unscheinbare Kolonien, mit uncharakteristischer Randzone; die Tiefenkolonie ist oft moosartig verzweigt.

Im Ca-n-Butyrat-Agarstich findet trotz des tiefen Sauerstoffminimums für Sporenkeimung (siehe unten) kein sichtbares Wachstum

[1]) Wir hatten für diese Spezies zunächst den Namen Bac. campestris, „der Feldbewohnende", gewählt. Um eine mögliche Verwechslung mit dem Pseudomonas campestris (Pammel) E. F. Sm., dem Erreger der Adernschwärze des Kohls, zu vermeiden, haben wir unsere Spezies in Bac. segetalis, „der Saatlandliebende", umbenannt. Der bei den quantitativen Buttersäureabbau-Versuchen (Bredemann und Werner, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 494) mit aufgeführte Bac. campestris ist also identisch mit dem Bac. segetalis.

statt. Die Oberflächenkolonie färbt sich nach einiger Zeit stark braun und zeigt eine helle, schleimige Randzone.

Entwicklung auf verschiedenen Nährböden:

Agar:	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum . . .	gut	gut	gut	gut	0	0	f. nicht	0
Abbau beginnt n. Tagen	1—2 (s. stark)	1—2 (s. stark)	4	4	0	0	0	0

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0—III	IIIa—Vc	Vd—VIa	VII	VIIa	VIIb	VIII	VIIIa
Intensität des Wachstums:	0—1	0	0—1	0	0	0—1	0	0—1

IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVa	XVI
0—1	0	0	1—2	2	1—2	0—1	0	0—1

Alkali wird gebildet in den Nährlösungen 0, III, VII b; Säure wird gebildet in den Nährlösungen I b, II, VI a, XV und XV a.

Auf steriler Kartoffelscheibe findet kein Wachstum statt.

Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung: zwischen 0,2 und 0,9 mg Sauerstoff im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 80 und 120 Min.

Chemische Leistungen: Schwefelwasserstoff, Phenol und Indol werden nicht gebildet; Neutralrot und Methylenblau werden nicht reduziert. Ammoniak (Nährl. VII b, Spuren), Nitrit (VII, VII b) und Katalase (Spuren) waren nachzuweisen.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird langsam zylinderförmig verflüssigt. Vom oberen Teil des Stichkanals gehen zarte Ästchen ab.

9. Bacillus agrestis „Bredemann et Werner".

(Tafel II, Figur 9.)

Diese Art wurde dreimal isoliert, und zwar aus den Erdproben Nr. 3 (Harleshausen), Nr. 18 (Italien) und Nr. 4 (Zuckertopf). Zu der nachfolgenden Beschreibung diente der Stamm Italien.

Morphologische Untersuchung der Morphoden.

Die Sporen sind meist ellipsoid, seltener eiförmig oder gekrümmt. Sie keimen auf Ca-n-Butyrat-Agar unter vorheriger Anschwellung bei 28° nach 5 Std. meist äquatorial aus. Die in Wasser gezeichneten Sporen hatten folgende Größen:

Länge:	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8	1,9	2	2,1	2,2 μ
	4	1	4	6	12	22	15	6	9	7	4	8	1	1 %

Breite:	0,4	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1.0 μ
	1	6	10	20	37	32	12	3 %

Die Sporen haben also auf Ca-n-Butyrat-Agar in der Mehrzahl eine Länge von 1,5 μ und eine Breite von 0,75 bzw. 0,8 μ. Die größten sind 2,2 μ lang und 1 μ breit, die kleinsten 1,1 μ lang und 0,4 μ breit; die mittlere Länge beträgt 1,59 μ, die mittlere Breite 0,74 μ.

Die Keimstäbchen schwärmen auf Ca-n-Butyrat-Agar nicht sofort nach der Keimung, sondern erst nach 1—2 Std. Nach ca. 7 Std. bei 28° findet man große, sich lebhaft bewegende Stäbe und Doppelstäbe von durchschnittlich 3—4 μ Länge und 1—1,5 μ Breite. Nach 26 Std. entwickeln sich aus den Ruhestäbchen unter Bildung von stark lichtbrechenden Körnchen die ersten Sporangien, die nach ihrer Reife stäbchenförmige Gestalt haben. Diese stark lichtbrechenden Körner gaben jedoch weder die Glykogen- noch die Volutin- noch die Fettreaktion. Nur ein einziges Mal gelang es, den B. agrestis auf Kartoffel zum Wachstum zu bringen (siehe unten) und hier ließ sich als Reservestoff Fett nachweisen.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte bildet der B. agrestis kleine, grauweiße, leicht erhabene fettglänzende Einzelkolonien mit etwas gefranster Randzone.

Im Ca-n-Butyrat-Agarstich bildet der Bazillus vom Stichkanal parallel abgehende plattenförmige Wachstumszonen aus. Die Oberflächenkolonie entspricht der auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte.

Entwicklung auf verschiedenen Nährböden:

Agar:	form.	acet.	prop.	n-but.	valer.	capron.	capryl.	lact.
Wachstum . . .	gut	gut	gut	gut	0	0	f. nicht	gut
Abbau beginnt nach Tagen .	6	1—2 (s. stark)	6	4	0	0	0	4

Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien:

Nährlösung:	0	I	Ia	Ib	II	III	IIIa	IV	V	Va	Vb
Intensität des Wachstums:	2	2—3	2—3	2	2	1—2	3	1—2	2—3	2—3	3

Vc	Vd—VIa	VII	VIIa	VIIb	VIII	VIIIa
2—3	2	0—1	0	0—1	0	0

IX	X	XI	XII—XIV	XV	XVa	XVI
0—1	3	0	2	1—2	1	2

Säure wird gebildet in den Nährlösungen 0—II, III a, V a, V d—VI a, XV und XV a; Alkali wird gebildet in den Nährlösungen III und IV.

Auf steriler Kartoffelscheibe findet normalerweise kein Wachstum statt, nur ein einziges Mal gelang es, nach ungefähr 8 Tagen einen schleimig-weißen, matten, erhabenen Belag zu erzielen, der nach 1 Monat hellbraun bis gelb wurde. Bei mikroskopischer Betrachtung zeigten sich schöne, gesunde Stäbe, die z. T. in Ketten zusammenhingen und dick mit Reservestoffen gefüllt waren (Fett, nachgewiesen mit Sudan). Die Reaktion gegen Lackmus war neutral.

Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung: zwischen 9 und 10 mg Sauerstoff im Liter.

Maximum der Sporentötungszeit bei 100°: zwischen 150 und 170 Min.

Chemische Leistungen: Schwefelwasserstoff, Phenol, Indol, Nitrit und Katalase (Nährl. XIII) werden nicht gebildet, Neutralrot und Methylenblau nicht reduziert. Ammoniak (Nährl. VII b) war nachzuweisen.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird schnell zylinderförmig verflüssigt, vom Stichkanal gehen sehr kleine, kurze Äste ab.

10. Bacillus firmus „Bredemann et Werner".

(Tafel II, Figur 10.)

Die jetzt zu beschreibende Art wurde siebenmal aus den verschiedensten Böden isoliert. Obwohl geringe Verschiedenheiten zwischen den einzelnen Stämmen vorhanden sind, möchte ich sie doch als ein und derselben Spezies angehörend betrachten, da sie morphologisch vollkommen übereinstimmen und biologisch nur geringe Unterschiede zeigen, die sich aus der Variationsbreite der Spezies erklären lassen dürften.

Die einzelnen Stämme wurden aus folgenden Bodenproben isoliert:

1. Stamm Hamburg (Nr. 10, Teichschlamm des Botanischen Gartens, Hamburg),
2. Stamm Rauschen (Nr. 17, Ackerboden bei Rauschen),
3. Stamm Dolomiten (Nr. 31, aus einem Bergbach bei Ortisei, Dolomiten),
4. Stamm Ütliberg (Nr. 35, aus einer Erdprobe des Ütliberges bei Zürich),
5. Stamm Predigtstuhl (Nr. 42, Waldboden des Predigtstuhls b. Reichenhall),
6. Stamm Pyramiden (Nr. 44, Wüstensand der Pyramiden von Gizeh),
7. Stamm Rossitten (Nr. 50, Seesand von Rossitten).

Die Sporen sind meist ellipsoid, seltener eiförmig. Charakteristische Keimung, d. h. Austreten des Stäbchens aus der Spore, habe ich nie beobachten können. Möglicherweise geht der Keimvorgang mit dem Abstreifen einer mikroskopisch kaum sichtbaren, sehr dünnen Sporenmembran Hand in Hand. Die Zeit der Bildung des Stäbchens aus der Spore ist für die einzelnen Stämme verschieden. So fand ich bei dem Stamm „Rauschen" bereits nach 6½ Std., bei dem Stamm „Rossitten" zwischen 7 und 9 Std., bei den übrigen Stämmen meist erst nach 10 Std. lebhafte Schwärmer (28°).

Die in Wasser gezeichneten Sporen zeigten bei den einzelnen Stämmen folgende Größen:

Reihenfolge der einzelnen Stämme.

1.	Stamm Hamburg	153	gezeichnete Sporen
2.	Stamm Rauschen	153	„ „
3.	Stamm Dolomiten	133	„ „
4.	Stamm Ütliberg	145	„ „
5.	Stamm Predigtstuhl	122	„ „
6.	Stamm Pyramiden	134	„ „
7.	Stamm Rossitten	141	„ „

Längenmessung.

	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,75	1,8 μ
1.	—	—	1	3	4	27	14	12	8	8	10	8	4	—	1	—%
2.	1	—	1	2	4	27	15	10	11	9	11	5	1	1	1	1 %
3.	—	—	1	4	10	32	21	14	8	4	2	3	1	—	—	—%
4.	—	1	1	5	8	24	16	12	10	6	8	7	1	—	1	—%
5.	—	—	—	2	3	27	16	17	7	9	10	7	1	—	1	—%
6.	—	—	—	—	4	29	15	14	12	6	8	7	4	1	—	—%
7.	—	—	2	3	8	32	13	12	11	6	8	4	1	—	—	—%

Breitenmessung.

	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	0,9	1,0 μ
1.	—	8	35	31	13	7	5	1	—%
2.	—	3	26	33	26	8	4	—	—%
3.	1	2	33	40	19	3	2	—	—%
4.	—	6	47	34	10	3	—	—	—%
5.	1	3	35	31	17	9	4	—	—%
6.	1	10	33	39	11	5	1	—	—%
7.	1	4	27	36	20	7	4	—	1 %

Die Sporen sind also auf Ca-n-Butyrat-Agar meist 1 μ lang und 0,5 bzw. 0,6 μ breit. Die größten sind 1,8 μ lang und 1 μ breit, die kleinsten 0,6 μ lang und 0,3 μ breit.

Bei den einzelnen Stämmen betragen:

die mittleren Längen	die mittleren Breiten
1. 1,18 μ,	1. 0,58 μ,
2. 1,17 „	2. 0,61 „
3. 1,09 „	3. 0,58 „
4. 1,14 „	4. 0,56 „
5. 1,17 „	5. 0,59 „
6. 1,18 „	6. 0,56 „
7. 1,12 „	7. 0,60 „

Die Keimstäbchen haben auf Ca-n-Butyrat-Agar eine Länge von 1,5—8 μ und eine Breite von durchschnittlich 0,8 μ. Es kommt fast nie zur Zellkettenbildung, man findet meist Einzel- oder Doppelschwärmer. Nach 24—48 Std. bei 28° bilden sich aus den Ruhestäbchen die ersten Sporangien, die nach ihrer Reife stäbchenförmige Gestalt haben, ausnahmsweise auch spindelförmig aussehen können. Auf Ca-Form.-Agar kommt es zur Ausbildung von spindel- und trommelschlägerförmigen Sporangien.

Reservestoffbildung konnte bei keinem Stamm nachgewiesen werden.

Die Begeißelung der Schwärmer ist peritrich.

Auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte bildet die Spezies kleine, grauweiße, fettig glänzende, glattrandige Kolonien.

Im Ca-n-Butyrat-Agarstich zeigen die Stämme „Predigtstuhl", „Pyramiden", „Hamburg", „Dolomiten" und „Rauschen" vollständig identisches Wachstum; sie sind ca. 1 cm unter der Oberfläche vom Stich aus plattenförmig gewachsen; das Wachstum erstreckt sich zum Teil bis zum Rand des Reagenzglases. Die Oberflächenkolonien sind stark braun gefärbt und haben eine helle, schleimige Randzone. Stamm „Rossitten" wuchs nicht im Stich, Stamm „Ütliberg" nur unmittelbar unter der Oberfläche.

Entwicklung auf verschiedenen Nährböden:

	Art des Wachstums						
	1. Stamm Hamburg	2. Stamm Rauschen	3. Stamm Dolomiten	4. Stamm Ütliberg	5. Stamm Predigtstuhl	6. Stamm Pyramiden	7. Stamm Rossitten
⅓ D-Agar	0	nur direkt üb. d. Kondenswasser	0	0	0	0	f.nicht
Ca. form-Agar . .	gut	gut	gut	gut	gut	gut	gut
„ acet.-Agar . .	gut	gut	gut	gut	gut	gut	gut
„ prop.-Agar . .	gut	gut	gut	gut	gut	gut	gut
„ n-but.-Agar .	gut	gut	gut	gut	gut	gut	gut
„ valer.-Agar . .	0	0	0	schwach	0	0	0
„ capron.-Agar .	0	gut	1 Kolon. gewachs.	gut	0	0	0
„ capryl.-Agar .	f.nicht	f. nicht	0	f. nicht	f. nicht	0	0
„ lact.-Agar . .	0	gut	gut	gut	nur direkt üb. d. Kondenswasser	gut	gut

	Abbau beginnt nach Tagen:						
	1. St. Hamburg	2. St. Rauschen	3. St. Dolomiten	4. St. Ütliberg	5. St. Predigtstuhl	6. St. Pyramiden	7. St. Rossitten
Ca. form.-Agar .	1—2	1—2	1—2	1—2	1—2	1—2	1—2
„ acet.-Agar .	3—4	3—4	1—2	3—4	3—4	3—4	1—2
„ prop.-Agar .	4	4	6	6 schwach	4	6 schwach	6 schwach
„ n-but.-Agar .	4	4	4	4	4	4	4
„ valer.-Agar .	0	0	0	0	0	0	0
„ capron.-Agar	0	8	6	6	0	0	0
„ capryl.-Agar	0	0	0	0	0	0	0
„ lact.-Agar .	0	6	4	4	6	4	4

Im Abbau der Ameisen-, Essig-, Propion- und Buttersäure verhalten sich alle Stämme gleich, sie bauen die betreffenden Säuren innerhalb weniger Tage ab. Was die anderen Fettsäuren anbelangt, so zeigen die Tabellen ein unterschiedliches Verhalten der einzelnen Stämme. Trotzdem genügen meines Erachtens diese und die noch folgenden Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen nicht, um daraus neue Arten abzuleiten.

Wachstum in den Nährlösungen. Wachstumsintensität.

Nährlösung	Stamm Hamburg	Stamm Rauschen	Stamm Dolomiten	Stamm Ütliberg	Stamm Predigtstuhl	Stamm Pyramiden	Stamm Rossitten
0	2—3	2	0	3	0	0	0
I	2	2	1	1	0	0	0—1
Ia	2—3	1	0—1	0—1	0	0	0—1
Ib	2	2	1	2	0	0	0—1
II	1	1—2	1	2—3	0	0	0—1
III	1—2	1	0—1	0—1	0	0	1
IIIa	3	2—3	0	0—1	0	0—1	0—1
IV	1	0	1—2	2	0—1	0—1	1
V	2—3	2—1	1—2	2	1	1	0
Va	2	2—3	1—2	1	2	1—2	0
Vb	2—3	0	0—1	0—1	0—1	0	0
Vc	2—1	0—1	1	1	0—1	0—1	0—1
Vd	1	2	1	2	0—1	0	0
VI	2—3	0—1	0—1	0	0—1	0	0—1
VIa	2—3	1	0—1	0	0—1	1	0
VII	2	0—1	1—2	2	1—2	1—2	1—2
VIIa	1—2	0—1	0	0	0	0	0
VIIb	1	0—1	1—2	0—1	0—1	0—1	0
VIII	0	0	0	0	0—1	0	0—1
VIIIa	0	0	1	0—1	0—1	0—1	0—1
IX	0	0—1	0	0—1	0	0	0
X	3	2	0—1	0—1	0	0—1	0—1
XI	0—1	0	0	0	0	0—1	0—1
XII	0	1	0	0—1	0	0	0
XIII	1—2	1	2	2	1—2	1	2
XIV	2	1—2	2	2	1—2	1	2
XV	0	1—2	0	0	0	0	0—1
XVa	0	1	0	0	0	0	0—1
XVI	2	1	0—1	0	0	0	0—1

Wachstum in den Nährlösungen. (Reaktion gegen Lackmus.)

Nährlösung	Stamm Hamburg	Stamm Rauschen	Stamm Dolomiten	Stamm Ütliberg	Stamm Predigtstuhl	Stamm Pyramiden	Stamm Rossitten
0	schw. s.	schw. s.	—	sauer	—	—	—
I	sauer	neutral	schw. s.	sauer	—	—	sauer
Ia	schw. s.	schw. s.	sauer	st. sauer	—	—	sauer
Ib	sauer	sauer	sauer	sauer	—	—	sauer
II	neutral	sauer	neutral	neutral	—	—	sauer
III	alkal.	alkal.	alkal.	alkal.	—	—	alkal.
IIIa	sauer	sauer	—	sauer	—	sauer	sauer
IV	alkal.	—	schw.alk.	schw.alk.	alkal.	alkal.	schw.alk.
V	sauer	sauer	sauer	neutral	sauer	sauer	—
Va	neutral	sauer	neutral	neutral	sauer	neutral	—
Vb	schw. s.	—	neutral	neutral	sauer	—	—
Vc	alkal.	st. alk.	neutral	neutral	neutral	alkal.	sauer
Vd	schw.alk.	neutral	schw.alk.	alkal.	neutral	—	—
VI	st. sauer	sauer	sauer	—	sauer	—	sauer
VIa	sauer	st. sauer	sauer	—	sauer	sauer	—
VII	schw. s.	neutral	neutral	neutral	sauer	neutral	sauer
VIIa	neutral	neutral	—	—	—	—	—
VIIb	schw. s.	neutral	schw. s.	sauer	sauer	neutral	—
VIII	—	—	—	—	alkal.	—	alkal.
VIIIa	—	—	alkal.	alkal.	alkal.	schw.alk.	alkal.
IX	—	neutral	—	schw. s.	—	—	—
X	sauer	sauer	sauer	neutral	—	sauer	sauer
XI	neutral	—	—	—	—	neutral	alkal.
XII	—	schw.alk.	—	neutral	—	—	—
XIII	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral
XIV	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral
XV	—	sauer	—	—	—	—	sauer
XVa	—	sauer	—	—	—	—	sauer
XVI	sauer	schw.alk.	neutral	—	—	—	sauer

Auch bei der vorstehenden Untersuchung der Wachstumsmöglichkeit in flüssigen Nährmedien zeigen sich trotz eines im allgemeinen gleichen Wachstumsbildes doch gewisse Unterschiede in der Wachstumsintensität bei den einzelnen Stämmen. Wahl (1906, 495—96) stellte bei seinen Untersuchungen über verschiedene Stämme seines Bacillus daucarum ebenfalls fest, daß ein und dieselbe Spezies in den Gottheilschen Nährlösungen manchmal verschieden kräftiges Wachstum zeigt. Dasselbe gilt für die Alkali- und Säurebildung in den einzelnen Nährlösungen.

Auf steriler Kartoffelscheibe wachsen sämtliche Stämme nicht.

Das Minimum der Sauerstoffspannung lag bei sämtlichen Stämmen zwischen 0,2 und 0,9 mg Sauerstoff im Liter.

Bestimmung des Maximums der Sporentötungszeit bei 100°:

Minuten:	100	120	150	180	200	240	300	360	480	600
St. Hamburg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ Rauschen	+	—								
„ Dolomiten	+	+	+	+	+	±	+	+	+	—
„ Ütliberg	+	∓	+	+	+	+	—	—		
„ Predigtstuhl . . .	+	±	+	+	+	±	+	+	—	
„ Pyramiden . . .	+	+	+	+	+	±	+	+	—	
„ Rossitten	+	+	+	+	+	±	+	+	—	

Obwohl die Sporentötungszeit der einzelnen Stämme bei 100° eine nicht ganz übereinstimmende ist, muß doch als wichtigstes gemeinsames Hauptmerkmal die verhältnismäßig sehr hohe Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen festgehalten werden. Wir haben es mit einer interessanten, gegen Erhitzen außerordentlich widerstandsfähigen und anscheinend viel verbreiteten Form zu tun. Ähnlich hohe Sporentötungszeiten von nicht thermophilen Bakterien wurden schon von Globig (1888), Christen (1895) und Zettnow (1912) beschrieben. Unser B. firmus, der weder auf Kartoffel noch auf ⅓ D-Agar wächst, kann aber mit den von diesen Forschern beschriebenen Bakterien nicht identisch sein; denn alle von diesen Autoren beschriebenen Arten gehören ebenso wie unser B. montanus (Sporentötungszeit 8—10 Std.) in die mesentericus- bzw. subtilis-Gruppe.

Chemische Leistungen: Schwefelwasserstoff wurde nur vom Stamm Rossitten gebildet, Katalase nur vom Stamm Ütliberg, Phenol und Indol von keinem Stamm, ebenso wurden Neutralrot und Methylenblau von keinem der Stämme reduziert. Ammoniak wurde vom Stamm Rauschen (Nährl. VII) gebildet, vom Stamm Rossitten nicht, bei den übrigen Stämmen war es nur in Spuren nachzuweisen. In den Nährlösungen VII und VII b war Nitrit von sämtlichen Stämmen gebildet worden, vom Stamm Rossitten allerdings nur in Spuren. In der Nährlösung VIIa konnte Nitrit bei den Stämmen Hamburg, Pyramiden, Rauschen und Rossitten (Spuren) nachgewiesen werden.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatine wird von sämtlichen Stämmen langsam verflüssigt. Nach 5 Tagen war sie bei den Stämmen Hamburg, Rauschen, Predigtstuhl, Pyramiden und Rossitten erst leicht eingesunken. Die Verflüssigungszone hatte nach ca. 3 Wochen bei diesen Stämmen ein außerordentlich charakteristisches schlauchförmiges Aussehen. Die Stämme Dolomiten und Ütliberg bildeten dagegen eine zylinderförmige Verflüssigungszone. Vom Stichkanal gehen nie Ästchen aus.

Daß ich trotz einiger Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen, von denen besonders der Stamm Rauschen etwas aus dem Rahmen fällt, sie zu einer Art zusammenfasse, hat seinen Grund darin, daß sie in allen wesentlichen Punkten gute Übereinstimmung zeigten.

Die Größenmessungen der Sporen der einzelnen Stämme ergaben volle Übereinstimmung, ebenso verhielt es sich mit den Oidien und Sporangien. Auch ist das Gesamtbild des Wachstums auf der Ca-n-Butyrat-Agarplatte, im Ca-n-Butyrat-Agarstich auf den verschiedenen fettsauren Nährböden und endlich in den flüssigen Nährmedien trotz kleiner Unterschiede ein durchaus gleiches.

Hierzu kommt der Mangel der Bildung von Reservestoffen, das Nicht-Wachsen auf steriler Kartoffelscheibe, die Gleichheit des Minimums der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, die große Resistenz der Sporen gegen Hitze, die geringfügigen Unterschiede in den chemischen Leistungen der einzelnen Stämme und zuletzt, die allen Stämmen gemeinsame Eigenschaft der langsamen Verflüssigung der Gelatine.

Literaturverzeichnis.

1. Bredemann, G., Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 23. 1909. S. 385—568.) — 2. Bredemann, G., Untersuchungen

D. Tabellarische Übersicht der wichtigsten Eigenschaften der neuen Spezies.

Auf Ca-n-Butyrat-Agar

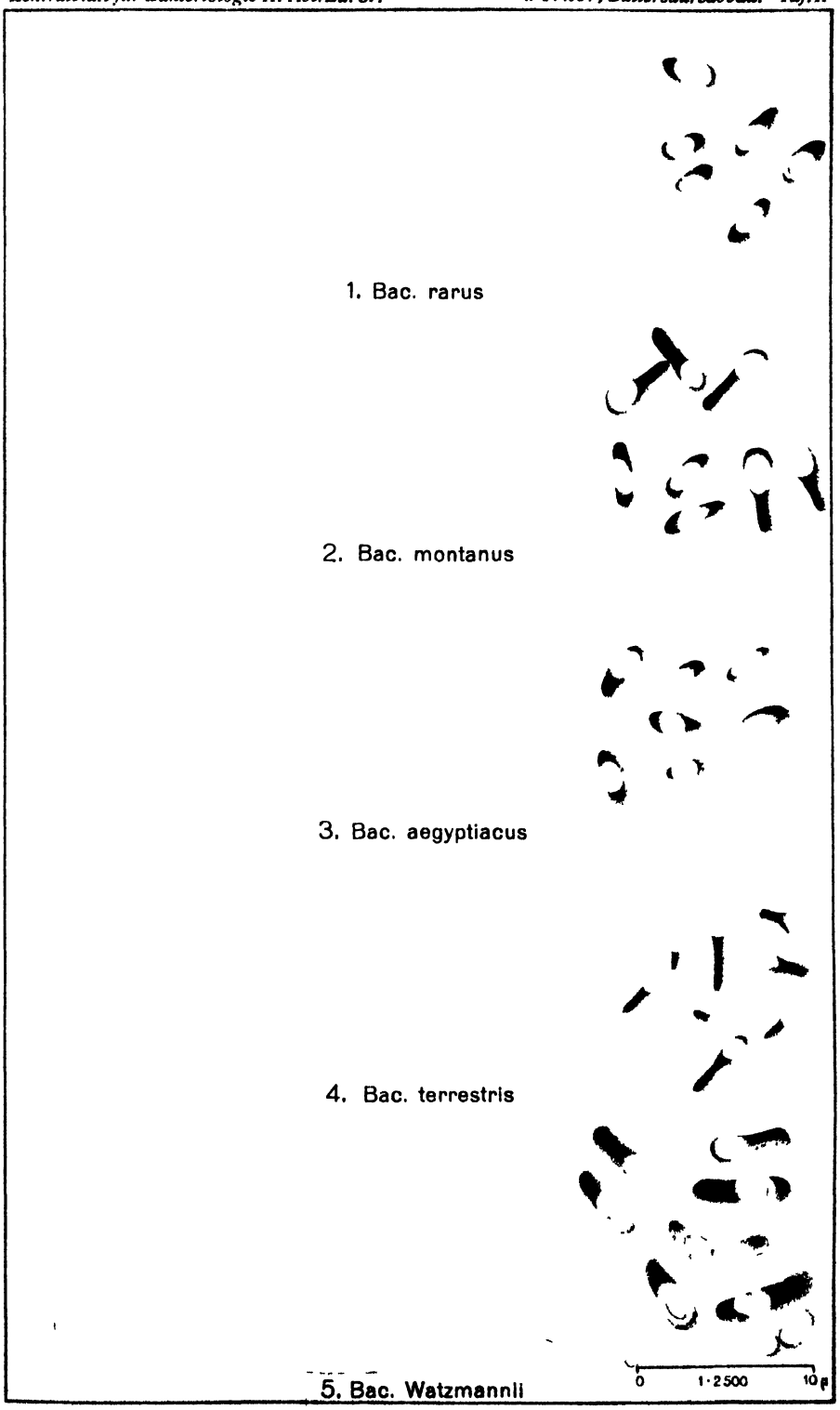
	Sporengröße Länge µ	Sporengröße Breite µ	Sporenform	Sporangienform	Reservestoffe	Charakteristische Wachstumsintensität in Nährlösungen	Sporentötungszeit bei 100° C Minuten	Minimum d. Sauerstoffsp. für Sporenkeimung mg
1. B. rarus B. et W. . .	1,1 —2,1	0,5 —1,25	ellipsoid, eiförmig	spindelförmig	—	II, III, IIIa, X = durchschnittlich 3 IV, Vb, Vc, VII—IX, XI = 0	5—6	0,8—1
2. B. montanus B. et W..	1,0 —2,5	0,5 —1,1	ellipsoid	spindel- u. trommelschlägerförmig	—	0—II, IIIa, X, XIII = durchschnittlich 3 VII, VIIb—IX, XI = durchschnittlich 0	480—600	2—3
3. B. aegyptiacus B. et W.	1,0 —2,0	0,5 —1,2	ellipsoid, eiförmig	spindelförmig	Fett?	0, I, Ib, III, IIIa, V = durchschnittl. 3—4 Ia, II, Va, Vb, VII—XI = 0	20—25	3—4
4. B. terrestris B. et W. .	0,5 —1,1	0,5 —1,1	rund	trommelschlägerförmig	—	0—IIIa, V, XIII, XIV = durchschnittl. 1 in allen übrigen = 0	3—4	0,2—0,9
5. B. Watsmannii B. et W.	1,25—2,4	0,75—1,5	ellipsoid	spindel- und trommelschlägerförmig	—	0—II, IIIa, V, Va, Vd, VIa—VIIb, IX, X, XIII = durchschn. 1, in allen übrigen = 0	5—8	0,2—0,9
6. B. orae B. et W. . . .	0,8 —2,0	0,5 —1,0	ellipsoid	spindelförmig	—	0, I, IIIa, XIV = durchschnittlich 2	5—6	0,2—0,9
7. B. alpinus B. et W. .	0,7 —1,6	0,5 —1,2	fast rund und rund	stäbchen- und spindelförmig	—	III, IV—XII, XV—XVI = durchschnitl. 0 XIII = 2 in allen übrigen durchschnittlich 0—1	30—40	1,0—1,4
8. B. segetalis B. et W. .	0,75—1,8	0,5 —1,0	ellipsoid	stäbchen- und spindelförmig	—	XII, XIII, XIV = durchschnittlich 2 sonst durchschnittlich 0—1	80—120	0,2—0,9
9. B. agrestis B. et W. .	1,1 —2,2	0,4 —1,0	ellipsoid	stäbchenförmig	Fett?	I, Ia, IIIa, V—Vc, X = durchschnittlich 3 VII—IX, XI = durchschnittlich 0	150—170	9,0—10,0
10. B. firmus B. et W.:								
Stamm Hamburg . . .	0,75—1,75	0,4 —0,9				0, Ia, IIIa, V, Vb, VI, VIa, X = durchschn. 3 VIII—IX, XII, XV, XVa = durchschn. 0	480—600	
Stamm Rauschen . . .	0,6 —1,8	0,4 —0,8				IIIa, Va = 2—3; Ia, III, IV, Vb, Vc, VI, VIa—IX, XI—XIII, XVa, XVI = durchschnittlich 0—1	100—120	
Stamm Dolomiten . . .	0,75—1,6	0,3 —0,8				IV—Va, VII, VIIb, VIII, XIV = durchschnittlich 2; in allen übrigen = durchschnittlich 0—1	480—600	
Stamm Üliberg	0,7 —1,75	0,4 —0,75	ellipsoid	stäbchenförmig	—	0, II = durchschnittlich 3; I, Ia, III, IIIa, Va, Vc, VI, VIa, VIIa—XI, XV—XVI = durchschnittlich 0—1	240—360	0,2—0,9
Stamm Predigtstuhl . .	0,8 —1,75	0,3 —0,8				Va, VII, XIII, XIV = durchschnittlich 2 in allen übrigen = durchschnittlich 0—1	360—480	
Stamm Pyramiden . .	0,9 —1,7	0,3 —0,8				Va, VII = durchschnittlich 2 in allen übrigen durchschnittlich 0—1	360—480	
Stamm Rossitten	0,75—1,6	0,3 —1,0				VII, XIII, XIV = durchschnittlich 2 in allen übrigen = durchschnittlich 0—1	360—480	

Wachstum auf verschiedenen Nährböden

½ Fl. Extr. Pept. Dextr. Agar	Ca-Form.-Agar	Ca-Acet.-Agar	Ca-Prop.-Agar	Ca-But.-Agar	Ca-Valer.-Agar	Ca-Capron.-Agar	Ca-Capryl.-Agar	Ca-Lact.-Agar
gut	gut	gut	gut	gut	0	gut	gut	gut
gut	gut	gut	gut	gut	schwach	gut	gut	gut
gut	gut	gut	gut	gut	0	0	fast nicht	gut
sehr zart	sehr zart	zart	0	zart	0	zart	gut	schwach
zart	sehr zart	schwach	0	zart	0	0	0	0
sehr zart	sehr zart	zart	fast nicht	sehr zart	0	0	0	zart
fast nicht	gut	gut	gut	gut	0	0	0	fast nicht
0	gut	gut	gut	gut	0	0	fast nicht	0
0	gut	gut	gut	gut	0	0	fast nicht	gut
0					0	0	fast nicht	0
nur direkt über d. Kondenswasser					0	gut	fast nicht	gut
0					0	1 Kolonie	0	gut
0	gut	gut	gut	gut	schwach	gut	fast nicht	gut
0					0	0	fast nicht	nur direkt über d. Kondenswasser
0					0	0	0	gut
fast nicht					0	0	0	gut

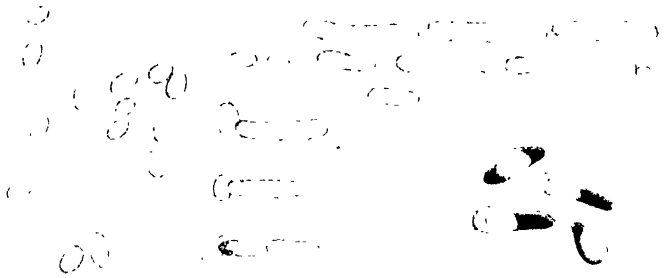
Chemische Leistungen

H_2S	Phenol	Indol	NH_3	Nitrit	Reduktion von Neutralrot u. Methylenblau	Gelatineverflüss.	Katalase
+	—	—	+	Spuren	—	fast nicht	—
+	—	—	+	+	—	fast nicht	+
—	—	—	Spuren	Spuren	—	+	—
+	—	—	Spuren	Spuren	—	+	Spuren
—	—	—	+	+	—	+	—
+	—	—	+	+	—	fast nicht	—
—	—	—	Spuren	+	—	+	+
—	—	—	Spuren	+	—	+	—
—	—	—	Spuren	+	—	+	—
—	—	—	+	+	—	+	—
—	—	—	Spuren	+	—	+	—
—	—	—	+	—	—	+	—
—	—	—	Spuren	+	—	+	—
—	—	—	Spuren	+	—	+	+
—	—	—	Spuren	+	—	+	—
—	—	—	Spuren	+	—	+	—
+	—	—	—	+	—	+	—

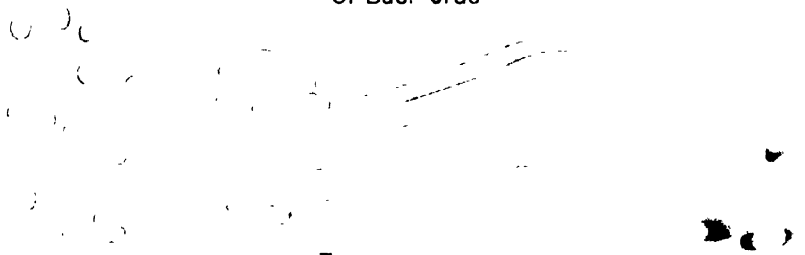


LITH. ANST. V. E. GILTSCH, JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA.



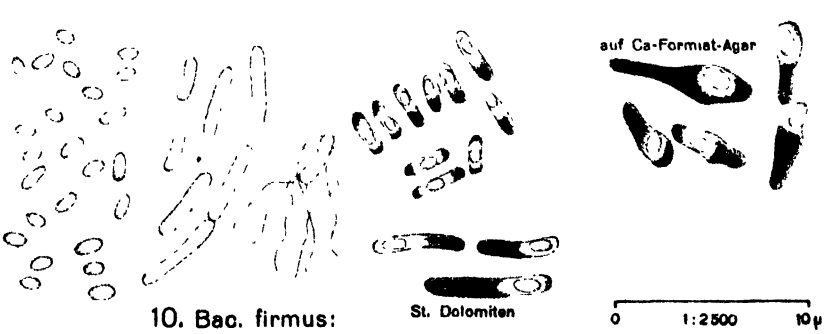
6. Bac. orae



7. Bac. alpinus

8. Bac. segetalis

9. Bac. agrestis



10. Bac. firmus:

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA.

LITH ANST. V. E. BILTSCH, JENA.

über die Variation und das Stickstoffbindungsvermögen des Bacillus asterosporus A. M., ausgeführt an 27 Stämmen verschiedener Herkunft. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 22. 1909. S. 44—88.) — 3. Bredemann, G., Untersuchungen über den biologischen Abbau der n-Buttersäure. I. Bildung und Wiederverarbeitung der Buttersäure bei natürlichen Gärungsvorgängen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 353—381.) — 4. Bredemann, G., und Werner, W., II. Über die am Abbau der Buttersäure beteiligten Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 479—497.) — 5. Christen, Theod., Untersuchungen über die Dauer des Sterilisationsprozesses im gespannten Dampf bei gegebenen fixen Temperaturen. (Mitt. a. Kliniken u. med. Instituten d. Schweiz. 1895. 3. Reihe, H. 2.) — 6. Garbowski, L., Über Abschwächung und Variabilität bei Bacillus luteus Smith et Baker (Bacillus luteus sporogenes R. T. Wood Smith and Julian L. Baker) und Bacillus tumescens „Zopf". (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. S. 641—655, 737—749; Bd. 20. S. 4—20, 99—113.) — 7. Globig, Über einen Kartoffel-Bazillus mit ungewöhnlich widerstandsfähigen Sporen. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. 3. 1888. S. 322—332.) — 8. Gottheil, O., Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. Beiträge zur Methode der Speziesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. S. 430—435, 449—465, 481—497, 529—544, 582—591, 627—637, 680—691, 717—730.) — 9. Holzmüller, K., Die Gruppe des Bacillus mycoides „Flügge". Ein Beitrag zur Morphologie und Physiologie der Spaltpilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. S. 304—354.) — 10. Klaeser, M., Die Reduktion von Nitraten zu Nitriten und Ammoniak durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 41. 1914. S. 365—430.) — 11. Lehmann-Neumann, Bakteriologische Diagnostik. Bd. II. München 1927. — 12. Meyer, Arth., Apparat für die Kultur von anaeroben Bakterien und für die Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakterienspezies. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1906. S. 337—349.) — 13. Meyer, Arth., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903. — 14. Migula, W., System der Bakterien. Handbuch der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Bakterien. Bd. II. Jena 1900. — 15. Neide, E., Botanische Beschreibung einiger sporenbildender Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12. 1904. S. 1—32, 161—176, 337—352, 539—554.) — 16. Stapp, C., Botanische Untersuchung einiger neuer Bakterienspezies, welche mit reiner Harnsäure oder Hippursäure als alleinigem organischen Nährstoff auskommen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 51. 1920. S. 1—71.) — 17. Viehoever, A., Botanische Untersuchung harnstoffspaltender Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der speziesdiagnostisch verwertbaren Merkmale und des Vermögens der Harnstoffspaltung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. 1913/14. S. 209—359.) — 18. Wahl, C., Über Verderber von Gemüsekonserven. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. 1906. S. 489—511.) — 19. Wund, M., Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung einer Reihe in Luft ihren ganzen Entwicklungsgang durchführender, sporenbildender Bakterienspezies. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 42. 1906. S. 97—101, 193—202, 289—296, 385—393, 481—488, 577—588, 673—678.) — 20. Zettnow, E., Über ein Vorkommen von sehr widerstandsfähigen Bazillensporen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 66. 1912. S. 131—137.)

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für angewandte Botanik der Hamburgischen Universität unter Leitung von Herrn Prof. Dr. G. Bredemann ausgeführt. Es ist mir ein aufrichtiges Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. G. Bredemann für seine mir jederzeit freundlichst gewährte Unterstützung bei Durchführung dieser Arbeit meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Kurze Notiz über die Katalyse der biologischen Stickstoffbindung.

[Aus dem Laboratorium für Bakteriologie der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **H. Bortels.**

In einer früheren Mitteilung (1) wurde gezeigt, daß Molybdän schon in nicht besonders gereinigten Nährlösungen die Stickstoffbindung durch Azotobacter chroococcum stark fördert, was von anderer Seite (2) bestätigt werden konnte. Auf Grund dieser Tatsache habe ich die Vermutung ausgesprochen, daß Fruchtbarkeit und Molybdängehalt des Bodens parallel gehen. Inzwischen ist unabhängig von diesen Untersuchungen durch Ter Meulen (4) die Richtigkeit des erwähnten Gedankens auf Grund zahlreicher Analysen bewiesen worden. Weitere Versuche ergaben, daß in synthetischen Mannit-Nährlösungen auch ohne besondere Reinigung derselben Azotobacter keinen Stickstoff in praktisch nennenswertem Umfange bindet, wenn in der Lösung Molybdän fehlt, bei Gegenwart von Molybdän dagegen meistens eine recht starke Stickstoff-Fixierung stattfindet. Unterschiede in der Höhe derselben bei scheinbar konstanten und optimalen Versuchsbedingungen sind auf bislang noch unbekannte Faktoren zurückzuführen. Bei der Suche nach solchen Elementen, die Molybdän in seiner Wirkung auf Azotobacter ersetzen können, und nach einem freundlichen Hinweis von Prof. Goldschmidt-Göttingen, dem auch an dieser Stelle besonders gedankt sei, fand ich 1930 in Vanadin-Verbindungen solche, die in ihrer fördernden Wirkung auf die Stickstoffbindung durch Azotobacter denen des Molybdäns fast gleich kommen. Außer Molybdän und Vanadin und dem zuweilen und dann nur schwach fördernden Wolfram[1]) erwiesen sich alle anderen der in Frage kommenden und geprüften Elemente als unwirksam (3). Konishi, der 1930/31 als Gast im Laboratorium für Bakteriologie der Biologischen Reichsanstalt gearbeitet und seine Untersuchungen in Japan fortgesetzt hat, fand auf Grund von Spektralanalysen, daß auch Vanadin wahrscheinlich in um so größeren Mengen im Boden vorkommt, je fruchtbarer dieser ist[2]).

Daß den Elementen Molybdän und Vanadin eine allgemeinere Bedeutung als Biokatalysatoren bei der Stickstoffbindung zukommt, geht aus Versuchen hervor, die hier mit Leguminosen angestellt wurden, und ebenso aus den Analysen Ter Meulens (4), wonach Leguminosen besonders reich an Molybdän sind. Es konnte eine z. T. recht auffallende Förderung verschiedener Leguminosen durch Molybdän- und Vanadin-Düngung festgestellt werden. Jedoch ist es zunächst nötig, die Ergebnisse durch Wiederholung der Versuche in der kommenden Vegetationsperiode zu sichern.

Bei Leguminosen-Kulturversuchen in Gefäßen mit Quarzsand machte ich eine weitere Beobachtung, die für eine Förderung der Stickstoffbindung durch sehr kleine Mengen von Molybdän- und Vanadin-Verbindungen spricht. In den Gefäßen nämlich mit einer Zusatzdüngung von Spuren von Natrium-

[1]) Nach M. Schröder (2) sind in besonders gereinigter Nährlösung nicht nur Molybdän, sondern auch Eisen, Kupfer, Zink, Silizium und Wolfram für Azotobakter unentbehrlich. Eine Notwendigkeit aller dieser Elemente speziell für die Stickstoffbindung ist aber nicht erwiesen.

[2]) Zur Zeit im Druck.

molybdat und Natriumvanadat entwickelte sich bald in der obersten Sandschicht eine üppige grün bis blaugrün gefärbte Algenvegetation im Gegensatz zu dem fast weiß bleibenden Sand in den Kontrollgefäßen.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt. Da aber einige Ergebnisse bereits aus dem Jahre 1930 vorliegen und eine ausführliche Publikation erst später erfolgen kann, weil andere Arbeiten zur Zeit dringlicher sind, mag dieser kurze Hinweis auf die bisher gemachten Beobachtungen einstweilen genügen.

Literatur.

1. Bortels, H., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 333. — 2. Birch-Hirschfeld, L., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 341. — 3. Schröder, M., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 85. 1932. S. 177. — 4. Ter Meulen, H., Recueil d. Travaux d. Pays-Bas. Bd. 50. 1931. S. 491.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile, begründet von Prof. Dr. **Friedrich Dahl**, weitergeführt von **Maria Dahl** und Prof. Dr. **Hans Bischoff**. 25. Teil: Urtiere oder Protozoa. I. Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria) von **A. Kahl**, Hamburg. 3. Spirotricha. Jena 1932, Gustav Fischer. Preis brosch. 17 RM.

Verf. behandelt in der vorliegenden Lieferung auf 251 Seiten die Ordnung Spirotricha Bütschli emend. und in ihr die 4 Unterordnungen der Heterotricha, Hypotricha, Oligotricha und Ctenostomata, und zwar nur die freilebenden und ektokommensalen Formen. Eine ganze Anzahl von Gattungen und Arten sowie einige Familien werden neu aufgestellt und die zahllosen bekannten Spezies, fast immer auf Grund eigener Anschauung in bezug auf Bau und Namensgebung, einer kritischen Revision unterzogen. Dem Text sind nicht weniger als 916 Abbildungen beigegeben. — Besonderer Wert ist auch auf Angaben über das Wohnwasser der einzelnen Formen gelegt worden. Das Werk wird nicht nur für die Bestimmung von Ciliaten aus Freilandfängen, sondern auch für die in Laboratoriumszuchten auftretenden Tiere ein zuverlässiger Führer sein.

P. Schulze (Rostock).

Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile, begründet von Prof. Dr. **Friedrich Dahl**, weitergeführt von **Maria Dahl** und Prof. Dr. **Hans Bischoff**. 26. Teil: Zweiflügler oder Diptera. V. Jena 1932. 204 S., 223 Abb. i. T. Preis brosch. 16 RM.

Dieser Teil bringt aus der Feder Z. Sziládys die Notacantha (Dornfliegen): die Erinnidae und Stratiomyidae, sowie die Rhagionidae (Schnepfenfliegen). O. Kröber stellt die Tabaniden und Thereviden dar. Unter den letzteren wird Thereva nobilitata als Roggenschädling genannt. Von E. O. Engel rühren die Abschnitte über die Omphralidae und Asilidae her. Neben den Bestimmungstabellen und Beschreibungen findet man immer auch einiges über die Lebensweise angegeben; die zahllosen Abbildungen erleichtern den Gebrauch der Tabellen sehr und setzen in der Regel auch den, der nicht für die betr. Gruppe

spezialisiert ist, in den Stand, die ihm vorliegende Art festzustellen. Druck und Ausstattung sind wie bei dem ganzen Werk vortrefflich. Rein formal ist zu bemerken, daß man starke Bedenken hegen kann gegen die völlig dem Korrektor überlassene Orthographie der Fremdnamen. Die Konsequenz, mit der immer z oder k statt c gebraucht wird, dürfte manchem Sprachgefühl entgegen sein, z. B. Diskalzelle, Okzipitalborste.

K. Friederichs.

Böving, A. G., and Craighead, F. C., An illustrated synopsis of the principal larval forms of the order of Coleoptera. (Sonderdr. a. Entomologica Americana. Vol. 11. 1931. 86 p., 125 pl.) Preis geh. $ 6.50, geb. $ 7.50.

Auf der Arbeit vieler Jahre beruhend, bringt uns dieses schöne Werk die Möglichkeit, Käferlarven bis zur Unterfamilie hin zu „bestimmen", die vorher nicht für jeden bestand, nachdem Schiödte, „Metamorphose der Eleutheraten", längst vergriffen ist. Horn nennt das Buch von Böving und Craighead nicht mit Unrecht eine der größten Leistungen der Entomologie von heute. Craighead hat von 1923 ab weniger mitgearbeitet als Böving, der das Werk dann allein vollenden mußte. Als Material standen hauptsächlich die großen Sammlungen des New Yorker Museums zur Verfügung, aber auch sonstige Sammlungen aus aller Welt. Die Abbildungen, welche den größten Teil des Buches ausmachen, sind fast sämtlich Originale.

Nicht nur die Aufgabe, Bestimmungsschlüssel zu geben, haben die Verff. sich gestellt, sondern sie wollten außerdem ein natürliches System auf Grund der Beschaffenheit der Larven aufstellen. Daher bevorzugen sie diejenigen Unterscheidungsmerkmale, die neben leichter Erkennbarkeit zugleich die verwandtschaftlichen Beziehungen zum Ausdruck bringen. Das System der Verff. ist von den bisherigen wesentlich verschieden. Die Archistemata Kolbes z. B. werden im systematischen Rang den Adephaga und Polyphaga gleichgestellt. Primitive Polyphaga werden für ursprünglicher angesehen als die entsprechenden Typen der Adephaga. Man kann freilich in einem System, weil dieses notwendig linear angeordnet ist, niemals den vielverzweigten und immer sehr hypothetischen Stammbaum wirklich darstellen, aber man kommt doch bei dem Verfahren der Verff. zu einem näheren Erkennen der Verwandtschaften.

Wahrscheinlich wird das Buch schnell vergriffen sein. Es ist auch bei der Arbeit in angewandter Entomologie ein recht wichtiges Hilfsmittel und zu beziehen von der Brooklyn Entomological Society, The Brooklyn Museum, Brooklyn, N. Y.

K. Friederichs.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Seiffert, G., Zur Morphologie und Entwicklung der Tuberkelbazillen. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 58. 1932. S. 1052—1053.)

Die Untersuchungen erstreckten sich in erster Linie auf die Frage, ob und inwieweit bereits bei den apathogenen Mykobakterien ein Formenwechsel oder Entwicklungszyklus vorhanden ist. Die wichtigsten Resultate sind: Der Grad der Säurefestigkeit schwankt nicht nur bei den verschiedenen Stämmen, sondern selbst bei ein und demselben Stamm. Während ganz junge Kulturen Säurefestigkeit oft noch nicht besitzen, kann sie mit

dem Älterwerden der Kulturen fast wieder verschwinden, insbesondere bei leichter Austrocknung. Dies ist aber nicht nur eine Alterserscheinung, sondern beruht auch auf fermentativen Wirkungen. Daher unterbleibt die Bildung säurefester Substanz bei Zusatz von Aspergillus-Filtraten. — Die Much schen Granula lassen sich bei den meisten Mykobakterien und bei sehr vielen Aktinomyces-Stämmen nachweisen. Sie stellen nicht etwa Degenerations- oder Abbauprodukte dar, sondern den gegen einen Abbau widerstandsfähigsten Bestandteil des Bakterienkörpers. Sie sind auch in den jüngsten Stäbchen nachweisbar. — Größe und Gestalt wechseln außerordentlich. Neigung zu besonders stark variierender Formenbildung ist oft stammeseigentümlich. Durch geringe Änderungen des Nährbodens können Riesen- und Zwergformen erhalten werden. Fadenbildung und Verzweigung sind bei den meisten Mykobakterien fast regelmäßig hervorzurufen. — Außer der Vermehrung durch Querteilung wurde bei den Mykobakterien wie auch bei den Tuberkelbazillen eine Vermehrungsart beobachtet, die der Luftsporenbildung der Aktinomyzeten entspricht. In diesem Stadium tritt eine Abschnürung der Stäbchen in 4—6 Teile auf. Diese werden Koch sche Körperchen benannt, da sie den von Koch als sporenhaltige Tuberkelbazillen bezeichneten Formen entsprechen dürften. Ihr Auftreten erklärt die Filtrierbarkeit der Mykobakterien durch gröbere Filter. Für das Vorhandensein einer ultravisiblen Form aber ergab sich kein Anhaltspunkt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Rippel, August, und **Stoess, Udo,** Ist Kalzium ein für Mikroorganismen notwendiges Element? (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 492—506.)

Die Angaben darüber, ob Kalzium notwendig sei für Mikroorganismen, sind sehr widersprechend; teils hat man keine Wirkung gefunden, teils eine solche festgestellt. Die Verff. prüfen 3 Bakterien, 1 Actinomyceten, 12 Pilze in dieser Hinsicht und stellen fest, daß „normalerweise" die Wirkung sehr verschieden ist. Bei Aspergillus niger ist, in Übereinstimmung mit den meisten älteren Versuchen, überhaupt keine festzustellen, bei anderen Pilzen, wie z. B. 2 geprüften Penicillium-Arten, ist sie stark. Bei Bakterien ergibt sich ein ähnliches Bild.

Weiterhin zeigte sich, daß die Ca-Wirkung lediglich auf dem von den höheren Pflanzen bekannten Antagonismus dem Magnesium gegenüber beruht. Der gegen Mg sehr widerstandsfähige Asp. niger zeigte keine Ca-Wirkung bzw. nur eine ganz schwache bei äußerst hohen Magnesium-Gaben (von etwa 40 g $MgSO_4 \cdot$aqu. in 100 ccm Nährlösung an!), während Mg-empfindliche Mikroorganismen deutlich reagierten bzw. die durch Mg verursachten Schädigungen wieder ausgeglichen werden konnten.

Die Ca-Wirkung kann weitgehend durch Strontium ersetzt werden, bei Rhizopus nigricans quantitativ, ebenso durch Tannin, offenbar infolge der gleichen fällenden, der aufquellenden des Mg entgegenarbeitenden Wirkung.

Weiter wird die Frage diskutiert, ob Kalzium ein notwendiges Element sei. Allgemein und unbedingt trifft das nicht zu, da Asp. niger in Quarzkölbchen (Jenenser 20er Glas enthält 0,8% CaO; darin gewachsenes Myzel ist Ca-haltig) völlig normal und ohne Myzeleinbuße wachsen kann, ohne eine Spur von Ca zu enthalten. Kalzium ist bei den Mikroorganismen also ein Individualfaktor. Bei diesen Betrachtungen wurde die Neutralisationswirkung des kohlensauren Kalkes ausgeschaltet. A. Rippel (Göttingen).

Barrit, N. W., The liberation of elementary nitrogen by bacteria. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1965—1972.)

Obwohl über die Entwicklung elementaren Stickstoffes bei der durch Bakterien bewirkten Denitrifikation schon eine große Literatur vorliegt, herrscht noch immer keine Klarheit über den Mechanismus dieser Vorgänge. Verf. bestätigt, daß gewisse Bodenbakterien unter aeroben Bedingungen N_2 in Freiheit setzen. Unter Luftabschluß verläuft der Vorgang nur dann im gleichen Sinne, wenn oxydierbare organische Verbindungen und Oxyde des Stickstoffes gleichzeitig vorhanden sind. In Gegenwart von Stoffen, in denen das Verhältnis C : N niedrig ist, verläuft die Bildung des freien Stickstoffes am raschesten, vorausgesetzt, daß der ph des Mediums nicht unter 6,5 liegt. Der elementare Stickstoff entsteht durch Reaktion zwischen HNO_2 und Aminoverbindungen, welche ihrerseits durch Bakterienwirkung entstehen können. Die freie HNO_2 kann durch Einwirkung von organischer Säure oder Kohlensäure auf Nitrite entstehen. Aus ammonnitrithaltigen Kulturflüssigkeiten entwickelt sich bei gewöhnlicher Temperatur kein freier Stickstoff. R. Koch (Berlin).

Sandiford, B. R. and Wooldridge, W. R., „Resting" bacteria. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 2172—2180.)

In der biochemischen Literatur wird öfters von gewaschenen und in physiologischer Kochsalzlösung oder Ringerlösung aufgeschwemmten Bakterienzellsuspensionen gesprochen. Diese Bakterienpräparate, in denen keine Zellvermehrung eintreten kann, werden als „ruhende" („resting") Bakterien bezeichnet. Verf. ist der Ansicht, daß es für den Ausfall der mit diesen „ruhenden" Bakterien angestellten Experimente nicht gleichgültig ist, ob die Organismen lebend oder tot sind, besonders wenn es sich um Untersuchungen über Bakterienoxydasen handelt. Tatsächlich fand Verf., daß Präparate von „ruhenden" Bakterien sowohl vermehrungsfähige als nichtvermehrungsfähige Zellen nebeneinander enthalten. In verschiedenen Substraten mit oder ohne Methylenblau bleibt bei anaerober Bebrütung bei 45° die Gesamtzahl der Zellen lange Zeit hindurch konstant. Die Zahl der lebenden Zellen zeigt in Gegenwart dieses Farbstoffes zunächst einen Abfall mit nachfolgendem Wiederanstieg und erneutem langsameren Absinken. Ist kein Methylenblau im Substrat, so sinkt die Zahl der vermehrungsfähigen Zellen allmählich ab. Die Wirksamkeit der Enzyme bleibt jedoch während der ganzen Bebrütungsdauer konstant. Demnach zeigen vermehrungsfähige und nichtvermehrungsfähige Zellen gleiche Enzymwirksamkeiten. Verf. hält es trotzdem für nötig, daß man die Zahl der jeweils vermehrungsfähigen Zellen angibt, wenn man von Präparaten „ruhender" Bakterien spricht, da die Zahl der vermehrungsfähigen Zellen auch unter solchen Bedingungen ansteigen kann, unter welchen ein Wachstum ausgeschlossen zu sein scheint. Noch besser ist es, den Ausdruck „ruhende" Bakterien ganz zu vermeiden und einfach von gewaschenen und unter bestimmten Bedingungen benutzten Bakterienaufschwemmungen zu sprechen. R. Koch (Berlin).

Hermann, S. und Neuschul, P., Milchsäure- und Brenztraubensäure-Abbau durch Essigbakterien. (Biochem. Zeitschr. Bd. 246. 1932. S. 446—459.)

Das Verhalten von 13 verschiedenen Stämmen von Essigbakterien gegenüber Natriumlaktat und brenztraubensaurem Natrium wurde untersucht.

In der Regel wurde die Milchsäure über Brenztraubensäure in Acetaldehyd verwandelt, welcher sich durch Karboligasewirkung zu Acetylmethylkarbinol (Acetoïn) kondensierte. Diese Substanz wurde zu Essigsäure und CO_2 weiteroxydiert. Als Nebenprodukt entstand $NaHCO_3$. Die Oxydation des Laktats zu brenztraubensaurem Salz wurde zwar nicht erwiesen, ist aber wahrscheinlich, weil beide Salze zu den gleichen Produkten abgebaut werden. Bact. gluconicum zeigte keine Acetoïnbildung. R. Koch (Berlin).

Bertho, A., Über den Atmungsprozeß der Milchsäurebakterien. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 45. 1932. S. 352.)

Zur Untersuchung der Natur der Dehydrase benutzte man als besonders geeignetes Material B. acidophilus, B. Delbrücki und B. iugurt. Der von ihnen absorbierte Sauerstoff tritt quantitativ als Wasserstoffperoxyd auf. Die Atmung wurde durch 10fache Variation des Sauerstoffdruckes nicht geändert, der Q-Wert (cbmm absorbierter Sauerstoff pro mg Trockensubstanz und Stunde) liegt bei 30—40, in Ausnahmefällen stieg er auf 100. Zyanyd, Kohlenoxyd, Urethan hemmen den Sauerstoffverbrauch, Chinon- und Methylenblaureduktion der Milchsäurebakterien nicht. Der respiratorische Quotient $\frac{\text{abgegebene Kohlensäure}}{\text{aufgenommener Sauerstoff}}$ ist 0,5. Das Dehydrasesystem greift den Zucker direkt an. Heuß (Berlin).

Birkinshaw, J. H., Charles, J. H. V. and Clutterbuck, P. W., Studies in the biochemistry of micro-organisms. XXI. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by species of bacteria. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1522—1539.)

In früheren Untersuchungen dieser Reihe war die Brauchbarkeit des sog. Czapek-Dox-Glukose-Mediums zur Untersuchung des Pilzstoffwechsels und zur Aufstellung von Kohlenstoffbilanzen festgestellt worden. In vorliegender Arbeit modifizierten Verff. den Nährboden in der Weise, daß er zu entsprechenden Untersuchungen an Bakterien geeignet wurde. Dazu mußte in erster Linie die Art der Stickstoffquelle verändert werden. Das Natriumnitrat des Czapek-Dox-Mediums wurde durch äquivalente Mengen $NaNH_4 \cdot HPO_4 + 4\,H_2O$ ersetzt. Da nur wenige Bakterienarten auf diesem Nährboden wuchsen, wurde 0,2% Pepton hinzugefügt. Diese geringe Peptonmenge ermöglichte 50 Bakterienarten gutes Wachstum und störte die Kohlenstoffbilanzberechnungen nicht merklich. Als Puffersubstanz bewährte sich $CaCO_3$ am besten. Methoden zur Bestimmung von 2·3-Butylenglykol und Milchsäure, welche häufig als Reaktionsprodukte auftraten, werden beschrieben. Für 20 Bakterienarten wurden C-Bilanzen bei 28 und 34° C aufgestellt. Die hauptsächlichsten Stoffwechselprodukte waren flüchtige Säuren, flüchtige Neutralsubstanzen, Milchsäure und 2·3-Butylenglykol. B. asiaticus mobilis lieferte bis zu 30% Ausbeute an letzterem Stoff. R. Koch (Berlin).

Birkinshaw, I. H., Callow, R. K. and Fischmann, C. F., Studies in the biochemistry of micro-organisms. XXII. The isolation and characterisation of ergosterol from Penicillium puberulum Bainier grown on a syn-

thetic medium with glucose as sole source of carbon. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1977—1980.)

Obwohl das Vorkommen von Sterinen, insbesondere Ergosterin, in Pilzen, welche auf synthetischen Nährböden gewachsen waren, in vielen Fällen nachgewiesen wurde, so ist dies bisher noch nicht geschehen, wenn die Nährlösung Glukose als einzige C-Quelle enthielt. Verff. konnten nachweisen, daß Penicillium puberulum Bainier imstande ist, Ergosterin aus Glukose in synthetischer Nährlösung aufzubauen.

R. Koch (Berlin).

Pruess, L. M., Gorcica, H. J., Greene, H. C. und **Peterson, W. H.**, Wachstum und Steringehalt gewisser Schimmelpilze. (Biochem. Zeitschr. Bd. 246. 1932. S. 401—413.)

Wachstum und Steringehalt von 30 Aspergillus-Arten, 25 Penicillium-Arten und 15 Arten anderer Gattungen wurden auf 3 verschiedenen Nährböden miteinander verglichen. Außerdem wurden 10 Arten höherer Pilze, die im Freien gesammelt worden waren, auf ihren Steringehalt untersucht. Die zur Schimmelpilzzüchtung benutzten Nährlösungen I und II enthielten außer anorganischen Nährsalzen nur 10% Glukose als einzige C-Quelle. Nährlösung II unterschied sich von I durch einen Zusatz von $CaCO_3$. Nährlösung III war ein Malzkeimauszug mit 10% Glukose. Infolge günstigerer Reaktion war in II das Pilzwachstum besser als in I, und zwar fast so gut wie in III. Wachstum und Sterinbildung gehen parallel. Die Pilze sind also zur Sterinsynthese befähigt. Die Sterinbestimmung erfolgte auf kolorimetrischem Wege.

R. Koch (Berlin).

Henneberg, W., und **Kniefall**, Über die Gruppe Scopulariopsis brevicaule (= Penicillium brevicaule). (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 520—529, 11 Textabb.)

Es wurden 8 braune, 9 weiße und 3 schwarze Stämme aus Käsen, Butter, Milch, Margarine, Kellerluft und Kellergeräten genauer untersucht. Sie waren gegen Säure auffallend empfindlich, gegenüber alkalischen Stoffen jedoch sehr widerstandsfähig (z. B. Soda bis zu 18%). Ammoniak in Mengen von 0,13% regte das Wachstum an. Daraus erklärt sich das häufige Vorkommen der Brevicaulegruppe auf älterem Käse. NaCl wird gut vertragen. Im allgemeinen ergab sich, daß die braunen Stämme etwas kräftiger sind: die Widerstandsfähigkeit gegen Säure und Hitze ist größer, der Milchabbau geht rascher vor sich und das Wachstum ist auch bei wenig Nährstoffen üppig.

H. Mossel (Weihenstephan).

Windisch, F., Die Bedeutung des Sauerstoffs für die Hefe und ihre biochemischen Wirkungen. (Biochem. Zeitschr. Bd. 246. 1932. S. 332—382.)

Nach den Anschauungen Pasteurs ist die alkoholische Gärung als conséquence de la vie sans air aufzufassen. Daß auch die Kulturhefen durch Lufthungerzüchtung zur Steigerung der Gärleistung der Einzelzelle gebracht werden können, wurde vom Verf. gezeigt. Zur Untersuchung gelangten verschiedene Bierhefen, Weinhefen, Brennereihefen und Preßhefen, sowie die bereits von Hayduck und Haehn zu ähnlichen Zwecken benutzte Torula utilis. Diese Hefen wurden in 12proz. Bierwürze oder in mineralsalzhaltiger Melasselösung (Torula utilis) unter Lüftung oder ohne Lüftung bzw. unter 0,5 Atm. Spundungsdruck „aerob, halb an-

aerob oder anaerob" vorgezüchtet und alsdann die Intensität ihrer Atmung und Gärung in 12proz. Bierwürze oder in einer Glukose-Monokaliumphosphatlösung bestimmt. Zu diesem Zwecke hatte Verf. eine besondere Apparatur konstruiert, welche die Messung der Stoffwechselgase größerer Hefemengen gestattete. Die Konstruktion dieser Makroapparatur zur Bestimmung der Atmungs- und Gärungsprodukte ist ein wesentlicher Teil vorliegender Arbeit. Nach Schütteln eines bestimmten Hefequantums mit einer abgemessenen Sauerstoffmenge wurde das entstandene Kohlendioxyd im Kaliapparat, der verbleibende Sauerstoffrest mittels glühender Kupferspirale aufgefangen. Die unter Spundung gewachsenen Hefen atmeten und goren, wenn sie mit Sauerstoff zusammengebracht wurden, stets intensiver als die „aerob" gezüchteten Hefen. Die „anaerob" gezüchteten Zellen waren in der Regel größer und hatten weniger Vakuolen als die aeroben Zellen. Verf. schließt daraus auf eine Kräftigung der Hefen durch anaerobe Züchtung. Im letzten Abschnitt der Arbeit findet Verf., daß die Vermehrung unter streng anaeroben Bedingungen von Führung zu Führung rasch abnimmt. Der Sauerstoff ist für die Hefevermehrung also nicht entbehrlich. R. Koch (Berlin).

Trautwein, K., und **Weigand, K.,** Die direkte Veratmung von Zucker durch Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 55. 1932. S. 67—69.)

Die Hefen Saccharomyces Marxianus und exiguus, die das hydrolysierende Ferment Maltase nicht enthalten und demzufolge die Biose Maltose nicht vergären können, sind imstande, diesen Zucker im Atmungsprozeß direkt zu oxydieren. Die dabei beobachteten Atmungsgrößen sind ganz normal, sie sind so hoch wie bei der vergärbaren Dextrose. Daraus geht hervor, daß von Hefen Zucker ohne vorhergegangene Gärung direkt veratmet werden kann. Atmung und Gärung muß nicht immer notwendig verkettet sein.

Bei Schizosaccharomyces octosporus, dem das Gärvermögen gegenüber Saccharose fehlt, konnte eine Veratmung dieses Disaccharides nicht festgestellt werden. Bei ihm konnte also der Beweis einer direkten Zuckerveratmung nicht erbracht werden. Heuß (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Lerche und Lorenzen, Erfahrungen in der Amtlichen Milchkontrolle von Vorzugs- und Markenmilch. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 457—507.)

Teil I: Klinische Untersuchungen. Die Untersuchungen des Bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer Niederschlesien erstrecken sich bei Vorzugsmilch auf einen Zeitraum von 5 Jahren, bei Markenmilch auf einen solchen von 2 Jahren. Die klinische Kontrolle der Vorzugsmilchherden wurde alle 3 Monate auf Tuberkulose und jeden Monat auf Euterkrankheiten und andere wichtige Krankheiten vorgenommen. In Markenmilchherden wurden außer einer einmaligen Tuberkuloseuntersuchung vierteljährlich Euteruntersuchungen vorgenommen.

Bei der klinischen Euteruntersuchung wurde die Anmelkmethode mittels der Schale nach Jonske angewendet. Bei verdächtigen Tieren wurden Einzel- bzw. Viertelgemelke entnommen und eingehend untersucht. In zwei der untersuchten Herden trat die Streptokokkenmastitis in seuchenhafter Ausbreitung auf, in den übrigen nur in Einzelfällen. Systematisch durchgeführte hygienische Maßnahmen in einem Bestande führten zu einer befriedigenden Sanierung. Die in den Galtbeständen zahlreich auftretenden Sekretionsstörungen waren in der großen Mehrzahl (81%) mit der Streptokokkenmastitis in Verbindung zu bringen. Die jährlich viermalige Untersuchung auf Tuberkulose und die monatliche Euteruntersuchung haben nicht

ausgereicht, um eine völlig tuberkelbazillenfreie Vorzugsmilch zu gewinnen. Dies gilt auch für die vierteljährliche Untersuchung der Markenmilchbestände. In 62%, der monatlich verimpften Vorzugsmilchproben und in 8% der Markenmilchproben gelangten Tuberkelbazillen zur Feststellung. Voraussetzung für die Gewinnung einer tuberkelbakterienfreien Vorzugsmilch ist nicht nur die Ausmerzung der eutertuberkulosekranken Kühe, sondern auch die frühzeitige Erkennung und Ausmerzung der an offener Lungentuberkulose leidenden Kühe. Daher ist eine monatliche klinische Untersuchung der Vorzugsmilchbestände zu fordern.

Abortus-Bang-Infektionen wurden sogar in verkalbefreien Vorzugsmilchherden angetroffen. Zur Beseitigung der Bang-Infektionen sind alle serologisch reagierenden Kühe zu entfernen oder abzusondern. Impfungen mit Lebendkulturen müssen unterbleiben. In 6 Vorzugsmilchherden wurden bei der Blutuntersuchung 26,3% für Abortus-Bang positiv reagierende Kühe ermittelt. Die Zahl der Bakterienausscheider schwankte zwischen 2,5 und 15,2%.

Teil II: Untersuchung der Vorzugs- und Markenmilch im Laboratorium. Zur Bestimmung der Keimzahl wurde die mikroskopische Methode nach Skar angewendet. Bei der sog. Gruppenzählung lagen die Werte im Winter zwischen 100 000 und 500 000, im Sommer um 500 000 herum. Verff. erachten einen mikroskopisch ermittelten Keimgehalt von 500 000 für Vorzugsmilch als noch zulässig. — Bei der kulturellen Keimzahlbestimmung mittels Kalbfleischagar waren die Keimzahlen im Winter durchschnittlich 100 000, zu den anderen Jahreszeiten 100 000—200 000. 200 000 wurde als noch zulässiger Höchstkeimgehalt angesehen. Leider wandten hierbei die Verff. eine Methode an, die den heutigen Erfahrungen der bakteriologischen Keimzahlbestimmung in der Milchkontrolle keineswegs gerecht wird. Daraus erklärt sich einerseits die große Variabilität der beim Plattenkulturverfahren erhaltenen Werte, anderseits die große allgemeine Diskrepanz derselben im Vergleich zum Ergebnis der mikroskopischen Gruppenzählungen, die bei Anwendung der sonst in der bakteriologischen Milchkontrolle üblichen Methoden nicht in dieser Weise beobachtet wird. Den „Zufälligkeiten", die die Verff. hierfür verantwortlich machen, wären sie bei entsprechender Technik nicht in diesem Maße ausgesetzt gewesen.

Die Ermittelung des Coli-aerogenes-Titers diente Klimmers Bromthymolblau-Trypaflavinagar. Der Gehalt an Colibakterien (gelbe Kolonien auf dem genannten Agar) betrug in den meisten Fällen 100—200. Er war nach den bestehenden Bestimmungen also zu hoch. Für Markenmilch wird von Verff. ein Colititer von 100—200 als noch zulässig angesehen.

Mittels des Kalziumkaseinatagars gefundene Kaseolytenzahlen beliefen sich in Vorzugsmilch auf 50 bis 600, im Durchschnitt auf 200—300.

An pathogenen Bakterien wurden Mastitisstreptokokken in 15%, Tuberkelbazillen in 5,2% und Abortus-Bang-Bakterien in 3,8% der Vorzugsmilchproben gefunden. Streptococcus epidemicus oder Pyogenes hominis sowie Erreger der Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe wurden niemals angetroffen.

Bei der Haltbarkeitsprüfung (48 Std. bei 8° C) wurde bei guter Milch ein Ansteigen des Säuregrades nach 24 Std. auf 6,4—7,6° S.-S. und nach 48 Std. auf 7,6—8,8° S.-H. festgestellt. Es konnte eine Beziehung zwischen der Höhe des Anfangskeimgehaltes und der Haltbarkeit gefunden werden. Bei dem Erhitzungsnachweis waren die Peroxydasereaktionen mittels Guajak-Guajakol nach Schern und das Tillmans-Reagens einander gleichwertig. Die Methode nach Schern-Gorli war bei dem Erhitzungsnachweis dauerpasteurisierter Markenmilch eine wertvolle Unterstützung.

Zur Konservierung von Markenmilchproben bis zur Verarbeitung leistete ein Zusatz von 0,04% Formalin gute Dienste. Er fixiert den Keimgehalt, der noch mikroskopisch, jedoch nicht mehr kulturell bestimmt werden kann. Er stört nicht die Untersuchung der Milch auf Farbe, Geruch, Konsistenz, Säuregrad, Fett, Peroxydasen und nach Schern-Gorli. Er gestattet die Verimpfung der Proben auf Meerschweinchen, da weder Tuberkel- noch Bang-Bakterien geschädigt werden, im Gegensatz zu den Coli- und den kaseolytischen Bakterien. H. Mossel (Weihenstephan).

Minkewitsch, J. E., Zur Bestimmung des Coliaerogenestiters in Milch. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 125. 1932. S. 125—128.)

Bei der vergleichenden Prüfung der Verfahren nach Bulir, Keßler-Swenarton und Haupt-Klimmer-Borchers schnitt das nach Keßler-Swenarton am besten ab. Zur Untersuchung von Wasser wird jedoch das Bulir-Verfahren immer noch als das beste empfohlen. — Herstellung des Substrates nach Keßler-Swenarton: Kochen von 1 l Wasser mit 10 g Pepton und 50 ccm Galle, Filtration, Zusatz von 10 g Laktose, Nachfüllen auf 1 l, Einstellen des ph auf 7,8—8,2, Zusatz von 4 ccm 1proz. wässeriger Gentianaviolett-Lösung (1 : 25 000), Abfüllen in Reagenzgläser mit Gärröhrchen und Sterilisation bei 120° für 15 Min. Verf. modifizierte dieses Verfahren dahin, daß er Gentianaviolett 1 : 50 000 (oder Trypaflavin 1 : 100 000) verwendete und die Laktose in Form von Milch zusetzte. Die Versuchsmilch ist danach mit steriler Milch 1 : 2, 1 : 20, 1 : 200 usw. zu verdünnen und dann in der Menge von 2 ccm in die zu je 8 ccm abgefüllte Bouillon einzuimpfen. — Die sanitäre Bedeutung des Coliaerogenestiters hält Verf. noch für ungeklärt, da die Coliaerogenesflora der Milch stark von der des Darmes abweicht und ihre Herkunft noch zweifelhaft ist. Rodenkirchen (Duisburg).

Hinsberg, K., und Holland, G., Die Beeinflussung der Milchsäuregärung in der Milch durch Monojodessigsäure. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 11. 1932. S. 1338.)

Durch Zusatz von Monojodessigsäure zu ungekochter frischer Kuhmilch gelingt es, die enzymatische Bildung von Milchsäure aus Laktose durch Mikroorganismen einzuschränken und dadurch die Spontangerinnung hinauszuzögern. Die optimale Wirkung der Monojodessigsäure liegt bei 2 mg-%. Rodenkirchen (Duisburg).

Gorini, C., Über die Milchgerinnung durch Bact. typhi und andere parasitische, angeblich gerinnungsfähige Bakterien. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 542—545.)

Um auch solche Bakterienstämme zu einer Milchgerinnung zu veranlassen, die bisher als nicht koagulierend angesprochen wurden, überschichtet Verf. gut entwickelte Schrägagarkulturen mit tyndallisierter, beim Sterilisieren weiß gebliebener Milch, bis die ganze Oberfläche der Kultur bedeckt ist. Die Kultur wird mittels eines Platindrahtes mit der Milch vermischt, Bebrütung bei 37—38° C. Blutagar oder Hefeagar an Stelle des gewöhnlichen Agars erhöht die Wirkung.

12 mittels dieser Methode auf Milchkoagulation untersuchte Typhusstämme zeigten nach längstens 23tägiger Bebrütung positives Verhalten, desgleichen Bact. Morgani, Bact. lipolyticum und die meisten Streptokokken. Es handelte sich in fast allen Fällen um Labgerinnung. H. Mossel (Weihenstephan).

Klimmer, M., und Haupt, H., Übertragungsversuche von Galtstreptokokken auf altmilchende Kühe durch Einhüllen des Euters in mit Galtstreptokokken benetzte Materialien. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 13. 1932. S. 515—519.)

Durch Einhüllen des Euters in mit Galtstreptokokken benetzte Materialien (Zellstoff und Strohhäcksel) über Nacht wird in etwa $^1/_3$ bis $^1/_2$

der Fälle eine Galtinfektion bewirkt, die ähnlich der natürlichen Infektion einen durchaus schleichenden Charakter aufweist. Es wurden durchwegs nur Hinterviertel von der Galtinfektion betroffen.

Der schleichende Charakter tritt sowohl am Anfang der Krankheit, als auch im weiteren Verlaufe zutage, wo die Veränderungen der Milch, der Bodensatz und die Streptokokken nur allmählich erkennbar werden und klinische Erscheinungen erst sehr spät auftreten.

Es besteht die Aussicht, mit derartigen künstlichen Infektionen weiteren Einblick in die bei der natürlichen Infektion maßgebenden Umstände zu gewinnen. H. Mossel (Weihenstephan).

Lüers, H., Jahresbericht der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München 1931/32. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. Bd. 72. 1932. S. 947—948, 959—961, 963—965.)

Versuche über die Transmutation von Penicillium in Hefe. Von H. Fink und E. Berwald. Wijkman glaubte bei bestimmten Untersuchungen die Bildung von Hefe aus Schimmelkulturen beobachtet zu haben. Verff. prüften dieselben Kulturen auf dieses Phänomen hin nach, kamen jedoch in keinem Fall zur Bejahung dieser Befunde, sie fanden lediglich eine Torulaart in den Kulturen, so daß es sich vielleicht doch nur um eine Infektion gehandelt haben dürfte.

Unterscheidung und Klassifizierung von Kulturhefen auf spektroskopischem Wege. Von H. Fink und E. Berwald. Über das Ergebnis dieser Untersuchungen wird gesondert berichtet.

Studien an Bierfiltern. Von J. Fuchs. Die Filtration durch das E. K.-Filter von Seitz liefert sterile Biere, die aber, wenn nachträglich die Möglichkeit einer Infektion gegeben ist, dieser viel leichter zum Opfer fallen, als gewöhnlich filtrierte Biere. Die Ursache für diese Erscheinung wurde darin gefunden, daß das E. K.-Filter lösliche Stoffe enthält, die das Wachstum von Bierschädlingen, insbesondere Sarzina, begünstigen.

Über das Katadynverfahren. Von J. Fuchs. Das Katadynverfahren gründet sich auf die Entdeckung der olygodynamischen Wirkung von Schwermetallen. Wasser, das durch einen Apparat mit Silberelektroden fließt, wird unter Zuhilfenahme eines schwachen Gleichstromes mit Silberionen beschickt. Durch Stromstärke und Durchflußgeschwindigkeit kann der Gehalt dieses Katadynwassers variiert werden. Das Katadynwasser wirkt tödlich auf die für den Brauereibetrieb in Frage kommenden Organismen ein, wobei sich Sarzina am widerstandsfähigsten erwies. Die desinfizierende Wirkung des Katadynwassers wird jedoch zunichte gemacht, wenn außer den Organismen darin noch organische Stoffe, wie Würze- oder Bierextrakt vorhanden sind, weil dadurch das Silber zum Teil entionisiert und so unwirksam wird. Arbeitet man in der Praxis mit Katadynwasser, so empfiehlt es sich jedenfalls, alle zu desinfizierenden Apparaturen, Leitungen, Schläuche usw. zuerst einer möglichst gründlichen mechanischen Reinigung mit Wasser und Bürste zu unterwerfen, ehe man sie mit Katadyn-Wasser beschickt. Es genügt dann in der Praxis ein Silbergehalt von 400—500 γ im Liter Katadynwasser. Heuß (Berlin).

Lindemann, M., Der Gehalt des Hefepreßsaftes nach Buchner an antineuritischem Vitamin. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 55. 1932. S. 41—42.)

Hefepreßsaft erwies sich stets als sehr reich an Vitamin B, ganz gleich, ob die Hefezelle durch Hitze, Kälte oder mechanische Zertrümmerung (Zerreiben mit Kieselgur und Quarzsand oder Kolloidmühle) gezwungen wurde, ihren Zellsaft abzugeben. Nur bei Plasmolyse der Hefe mit starkem Alkali wird das Vitamin vollkommen zerstört. Das Vitamin ist nicht nur gegen Hitze, sondern auch gegen Druck sehr widerstandsfähig. Heuß (Berlin).

Satava, J., Die Haltbarkeit des Bieres und dessen Vergärung. (Der böhmische Bierbrauer. Bd. 59. 1932. S. 409—411.)

Flaschenbier ist meist weniger gut haltbar als Faßbier. Dies kann daher rühren, daß das Flaschenbier 2 Abfüllprozeduren durchmacht, daß mit der größeren Umhüllungsfläche der Flasche größere Verunreinigungsmöglichkeiten durch nicht entfernte eingetrocknete Reste oder das biologisch nicht immer einwandfreie Ausspülwasser gegeben sind, vor allem aber dadurch, daß das Bier in der Flasche in größerem Maße mit der Luft in Berührung kommt, deren Sauerstoff anregend auf etwa vorhandene Organismen wirkt. Hefetrübungen, namentlich mit wilder Hefe treten auf, wenn das Bier während der Haupt- und Nachgärung nicht sorgfältig gegen Infektion geschützt wurde, denn die kleinen Zellen wilder Hefen gehen durch das Filter. Ob sich Hefe nachträglich entwickeln kann, hängt von der Vergärung ab. Flaschenbier ist nur dann entsprechend vergoren, wenn es keine wesentlichen Mengen vergärbaren Zuckers enthält. Ein Urteil über die herrschenden Verhältnisse bildet man sich entweder durch Feststellung des Endvergärungsgrades eines Bieres oder durch Ermittlung seines Rohmaltosegehaltes. Heuß (Berlin).

Schüler, W., Eine schnelle Bestimmung des Endvergärungsgrades von Würze und Bier. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 49. 1932. S. 318—320.)

Die bisherige Art der Ermittlung des Endvergärungsgrades leidet zweifellos an gewissen Mängeln und Ungenauigkeiten und erfordert vor allem relativ viel Zeit. Verf. arbeitet mit einem hängenden Blechkasten als Wasserbad von konstanter Temperatur, in dem sich die Gärstutzen befinden, und leitet während der Vergärung dauernd einen schwachen Luftstrom durch, wodurch die Erreichung der Endvergärung so beschleunigt wird, daß man im praktischen Betrieb auf Grund des genannten Befundes rechtzeitig etwa notwendig erscheinende Änderungen in der Sudhausarbeit treffen kann. Heuß (Berlin).

Schnegg, H., Ein neues Verfahren zur Keimfreimachung des Bieres. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 55. 1932. S. 45—52, 53—56.)

1½ jährige Versuche mit dem BMF-Sterilisator der Berndorfer Metallwarenfabrik Berndorf ergaben, daß zur Sterilisation die bei der gewöhnlichen Pasteurisation eingeahltenen Temperaturgrade von 65—70° C nicht ausreichen, daß man vielmehr zur Erzielung einer sicheren Wirkung auf 75° C gehen muß. Das unmittelbar vom Apparat weg in Aluminiumfässer gefüllte Bier bleibt auch nach monatelanger Lagerung unter ungünstigsten Verhältnissen in der Wärme steril und zeigt keine Eiweißausflockung. Vor dem Abfüllen unterkühlte Biere zeigten nach der Behandlung im Sterilisator keine bzw. stark verminderte Kälteempfindlichkeit gegenüber nicht unterkühlten Bieren. Weder Geschmack, noch Farbe, Schaumhaltigkeit, Kohlensäuregehalt oder

Kohlensäurebindungsvermögen wurden durch die Behandlung im Sterilisator ungünstig beeinflußt, der Apparat stellt also zweifellos ein wertvolles Hilfsmittel zur Verbesserung der Haltbarkeit nicht nur für Exportbiere, sondern auch für Inlandsbiere, Rest- oder Rückbiere dar.

Die Sterilisierwirkung wird dadurch erreicht, daß man den Bierstrom auf kurzem Wege bei großer Durchgangsgeschwindigkeit erhitzt. Da das Bier dadurch nur wenige Sekunden der Sterilisiertemperatur aufgesetzt ist, und der Vorgang sich gleichzeitig unter hohem Druck abspielt, wird eine Schädigung des Bieres hintangehalten. Heuß (Berlin).

Koch, R., Sind Colibakterien im Bier lebensfähig? (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 49. 1932. S. 110—112, 116—120.)

Mittels Keimzahlbestimmungen wurde die Widerstandsfähigkeit von 10 verschiedenen Stämmen der Coligruppe gegenüber hellem und dunklem Bier geprüft. Die Keime vermochten sich im Bier wegen seines Gehalts an Alkohol, Kohlensäure und freier Säure nicht zu erhalten. Es kann also ein vom Hygieniker wegen zu hohen Coli-Titers beanstandetes Wasser bei Verwendung im Brauereibetrieb den Konsumenten des Bieres nicht gefährden. Trotzdem liegt es natürlich im Interesse der Brauereien, nur hygienisch einwandfreies Trinkwasser zur Bierbereitung zu verwenden, zumal eine Wassersterilisierung leicht und ohne große Kosten durchzuführen ist. Heuß (Berlin).

Liebetanz, R., Zweckmäßige Vorbehandlung der Späne für die Bierklärung. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 55. 1932. S. 91.)

Infolge der dauernden Abstoßung von Luft- und Kohlensäurebläschen wirken die Holzspäne belebend auf die Endvergärung. Für gewöhnlich werden die Späne in Wasser gekocht, um sie zu sterilisieren. Dabei saugen sie sich aber voll und büßen ihre Schwimmfähigkeit ein. Bessere Ergebnisse erzielt man, wenn man das Holz vorgetrocknet auf eine gewisse Mindesttemperatur bringt und diese einige Zeit hält. Für das meist verwendete Buchenholz liegt diese Temperatur bei 123° C. Man erreicht dabei auch eine bis 50 proz. Entquellung der Späne, d. h. ihre normale Saug- bzw. Quellfähigkeit, die die Schwimmfähigkeit herabsetzt, wird zu etwa 50% aufgehoben. Heuß (Berlin).

Herz, H., Zusammenhänge zwischen der Rahmsäuerungs-Methode und der Butterqualität. (Schweiz. Milchztg. Jahrg. 58. 1932. S. 571—572, 2 Tab.)

An Hand des Materials aus 4 großen Ausstellungen während 5 Jahren (Butterproben aus insgesamt 4400 Molkereien) fand Verf., daß die überwiegende Zahl der dänischen Betriebe beim Ansatz der Rahmreifung mit Temperaturen zwischen 16° und 18° C und einer Säureweckermenge zwischen 3 und 5% arbeiteten. Als am häufigsten gebrauchter Mittelwert aller Kombinationen zwischen Reifungsgrad und Säureweckermenge wurde 16° C und 4% Säurewecker gefunden. Dies gilt für Sommer und Winter. Es wurden zwar mit anderen Kombinationen ebenfalls gute Ergebnisse erzielt, jedoch nur dann, wenn der betreffende Buttermeier sein Handwerk sehr gut versteht. Bei Verwendung der obengenannten Kombination ist demnach das Risiko verringert. Aus den erzielten Punktzahlen war ersichtlich, daß mit jedem Grad Celsius, um den die Ansatztemperatur stieg, auch die Zahl der

Auszeichnungen zunahm. Das beste Einzelresultat erzielte z. B. eine Butter, deren Rahm bei 19½° C und mit 3% Säurewecker angesetzt worden war. Die Auszeichnungen wurden nicht etwa auf Grund der Resultate für das betreffende Jahr, sondern immer als Anerkennung für jahrelang gleichbleibend gute Produktion verliehen. Als Durchschnittswerte werden schließlich angegeben: um 4% Säurewecker (nicht über 8%) und Temperaturen zwischen 16° und 20° C. Es sei vorteilhaft, die Ansatztemperatur relativ möglichst hoch zu nehmen, während jede Senkung der Temperatur gefährlich sei. H. Mossel (Weihenstephan).

Sacchetti, M., Contributo alla conescenza della flora microbica di alcune formaggi italiani. 1. Nota: Lieviti alcoolici sporigeni. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 650—662.)

Es werden einige aus italienischen Weichkäsen isolierte, sporenbildende Hefen beschrieben: Zygosaccharomyces casei sp. n., Saccharomyces fragilis Joergensen, S. cartilaginosus Lindner, ferner eine neue Varietät dieser Form, S. cartilaginosus var. italica var. n. Es wurde das Alkoholbildungsvermögen bei verschiedenen Zuckern, und die Resistenz gegen Temperatur (fragilis vergärt noch bei 45° C), Milchsäure (fragilis vergärt noch bei 4,5%) sowie Kochsalz untersucht. Rippel (Göttingen).

Ruschmann, G., Essigsäurebakterien und Essigsäurebildung im Silofutter. („Die Futterkonservierung". Bd. 3. Heft 4.)

Verf. behandelt die Ursachen der Essigsäurebildung, den Nachweis der Essigsäurebakterien, die Untersuchung verschiedener Silofutter, die Essigsäurebildung durch Essigbakterien, durch Milchsäurebakterien und durch Pflanzenenzyme. Er stellt fest, daß für die Essigsäurebildung im Silofutter weniger die Essigsäurebakterien selbst, als vielmehr die Essigsäure bildenden Bakterien verantwortlich zu machen sind, in deren Stoffwechsel die Essigsäure als Nebenprodukt auftritt. Es sind dies besonders die Vertreter der Coli aerogenes-Gruppe, weiter die Buttersäurebakterien, die Hefen und endlich die Milchsäurebakterien, womit die Feststellung Demeters über die Fähigkeit der Milchsäure-Streptokokken, neben Milch- auch Essigsäure zu bilden, bestätigt wird. Verf. findet neue Wege zum quantitativen Nachweis von Essigsäurebakterien. Als Nährlösung verwendet er mit gutem Erfolg Bier, das infolge seiner ziemlich hohen Azidität und seines hinreichenden Alkoholgehaltes dafür besonders geeignet erschien. Auch Bierwürze mit 2proz. Alkoholzusatz bewährte sich. Mit dieser Methode wurde eine große Zahl von Silofutterproben untersucht. Es ergab sich, daß Zuckerrübenblätter, Rotklee, Kleegrasgemisch, Lupinen und Seradella meist keine oder nur wenig echte Essigsäurebakterien enthielten, Kartoffeln, Wickgemenge und Mais dagegen regelmäßig und ziemlich viel. Doch wurde auch hier festgestellt, daß an der Bildung der z. T. recht hohen Essigsäuremengen die Essigsäurebakterien im allgemeinen nicht beteiligt waren, sondern meist Coli- und coli-ähnliche Bakterien. Das Alter oder der Wassergehalt bei den aus den verschiedensten Schichten hoher Turmsilos entnommenen Proben war ohne Einfluß. Kohlehydrat-

reiche Futterarten, darunter besonders Mais, wiesen einen höheren Essigsäuregehalt auf als die eiweißreichen. Impfung mit Essigsäurebakterien hemmte die Milchsäurebildung. Der zur Milchsäuregärung erforderliche Zucker wurde von ihnen unter anaeroben Bedingungen zu rasch vergoren und das Futter zum Verderben gebracht. Wurde dagegen gehäckseltes Gras stark mit Milchsäurebakterien (Bact. cucumeris fermentatis) geimpft, so entstanden reichliche Mengen Milchsäure und, als Nebenprodukt der Milchsäurebakterien, etwa 0,30% Essigsäure. Diese Essigsäurebildung durch Milchsäurebakterien im Silofutter steht im Einklang mit den Ergebnissen anderer Forscher, die ihre Untersuchungen an Reinkulturen anstellten. Bei höheren Essigsäuremengen hatten Coli aerogenes-Gärungen stattgefunden. Bei Gegenwart genügend reichlicher Zuckermengen wurden die Vertreter der Coli aerogenes-Gruppe im weiteren Verlauf der Konservierung von den Milchsäurebakterien unterdrückt. Sie starben in der für sie zu starken Milchsäure ab, so daß sie vielfach bei der nach Abschluß der Konservierung vorgenommenen Untersuchung des Futters nicht mehr nachzuweisen waren. Durch Pflanzenatmung oder Pflanzenenzyme wurde keine Essigsäure gebildet. In Versuchen, in denen dem Grünfutter antiseptische Mittel zugesetzt worden waren, konnte Essigsäure nicht nachgewiesen werden. Dies Ergebnis entspricht dem Untersuchungsergebnis Trautweins. Die proteolytischen Enzyme bewirkten keinen Eiweißabbau, der bis zur Bildung von gebundener Essigsäure und freiem oder leicht abspaltbarem NH_3 führte. Wenn deutliche Mengen gebundener Essigsäure auftraten, waren auch stets Coli- oder coli-ähnliche Bakterien oder typische Fäulniserreger nachzuweisen. Kulcke (München).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Norman, A. G., The biological decomposition of plant materials. VI. The effect of hydrogen ion concentration on the rate of immobilisation of nitrogen by straw. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1779—1787.)

Zur Bestimmung des bei der Strohzersetzung festgelegten Stickstoffes bediente sich Verf. folgender Anordnung: Eine Reihe von Lampenzylindern wurde mit 50—70 g trockenen Strohes gefüllt und tropfenweise mit den zu prüfenden Stickstofflösungen derart befeuchtet, daß pro Tag etwa 1 l der Lösung durch das Filter lief. Die Lösungen enthielten außer K_2HPO_4, $MgSO_4$, NaCl und $FeCl_3$ Ammoniumsalze in hohen Verdünnungen und waren auf schwach saure (ph = 5,0—5,5), neutrale (ph = 7,4—7,8) oder schwach alkalische Reaktion (ph = 8,5—8,8) eingestellt. Unter schwach alkalischen Bedingungen ging die N-Festlegung in den ersten Stadien der Rotte rascher vor sich als unter neutralen. Die neutrale Reaktion war für die N-Festlegung erheblich günstiger als die saure. Innerhalb 10 Wochen wurde unter alkalischen Bedingungen mehr organische Substanz zersetzt als unter neutralen. Die saure Reaktion war auch für die Zersetzungsgeschwindigkeit der organisehen Substanz weitaus am ungünstigsten. Die alkalischen Filter zeigten eine anfängliche Verzögerung der Zersetzung. Diese Erscheinung wurde bei anderer Reaktion nicht beobachtet. Die Bestimmung der „Stickstoff-Äquivalente" (siehe vorstehendes Ref.) zeigte, daß dies auf die Entwicklung einer Zellulose nichtzersetzenden Primärflora zurückzuführen ist. Der Verlust an Hemizellulose erreicht in den Strohfiltern einen erheblich

höheren Grad als in Komposthaufen. Die wirksame Mikroflora scheint also in beiden Fällen verschieden zusammengesetzt gewesen zu sein.

R. Koch (Berlin).

Richards, E. H. and **Norman, A. G.**, The biological decomposition of plant materials. V. Some factors determining the quantity of nitrogen immobilised during decomposition. (Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1769—1778.)

Bei der Rotte pflanzlichen Materials wird eine bestimmte Stickstoffmenge in den die Zersetzung bewirkenden Mikroorganismen in organischer Bindung festgelegt. Diejenige N-Menge, die bei maximaler Zersetzung festgelegt werden kann, ohne daß N-Verluste dabei auftreten, wird als „Stickstoff-Faktor" bezeichnet, ausgedrückt in Gramm festgelegten Stickstoffes je 100 g Pflanzensubstanz. Dieser N-Faktor spielt als Grundlage des Adco-Verfahrens eine besondere Rolle. Obwohl der Wert dieses Faktors für die verschiedenen Pflanzenmaterialien sehr verschieden ist, konnten Verff. auch in der vorliegenden Arbeit keine direkten Beziehungen zwischen der Zusammensetzung der Pflanzen und dem N-Faktor feststellen. Letzterer stellt nur das Verhältnis zwischen Festlegung einerseits und Ammonifikation andererseits dar. Da die pflanzlichen Eiweißstoffe ebenfalls teilweise nutzbar gemacht werden oder auch mikrobiologischer Stickstoff freigemacht und wieder verwendet wird, so stellt der N-Faktor nicht notwendig den gesamten bei der Zersetzung wirksamen Stickstoff dar. Die Rotte eiweißreicher Pflanzen kann selbst dann unter Verbrauch leicht assimilierbaren anorganischen Stickstoffes vor sich gehen, wenn genügende Mengen organischen Stickstoffes vorhanden sind. Vergleicht man den N-Bedarf bei der Rotte gleicher Mengen organischer Masse verschiedener Pflanzen miteinander, so erhält man einen Ausdruck für die Wirksamkeit derjenigen Organismen, welche die Zersetzung bewirken. Dieses sog. „Stickstoff-Äquivalent" ist ebenso wie der „Stickstoff-Faktor" eine Summierung der mikrobiologischen Vorgänge bei der Rotte und stellt anscheinend eine ziemlich absolute Größe dar.

R. Koch (Berlin).

Woodman, H. E., and **Stewart, J.**, The mechanism of cellulose digestion in the ruminant organism. III. The action of cellulose-splitting bacteria on the fibre of certain typical feeding stuffs. (Journ. Agric. Science. Vol. 22. 1932. p. 527—547.)

Verff. bearbeiten verschiedene Fragen der Zellulose-Verdauung durch Wiederkäuer und berichten in der vorliegenden Arbeit über experimentelle Vergleiche zwischen Zellulose-Verdauung im tierischen Organismus und Zellulose-Zersetzung im Laboratoriumsversuch durch thermophile Bakterien. Zweck dieser Untersuchungen ist die Beantwortung der Frage, ob das beschwerlichere Tierexperiment durch eine einfache Laboratoriumsmethodik mit Reinkulturen von thermophilen Zellulosezersetzern und aus Futterstoffen hergestellter Rohfaser ersetzt werden kann. Die verwendeten Bakterien wurden teils aus Dünger, teils aus tierischen Verdauungsorganen herausgezüchtet. Dabei ist besonders zu beachten, daß alle untersuchten Formen nur bei Gegenwart von Spuren von organischem N (Pepton, Kasein) auf die Dauer imstande sind, Zellulose abzubauen, und daß sie nach längerer Kultur auf zellulosefreien Nährböden diese Eigenschaft verlieren. Eigen-

artigerweise arbeiten diese Mikroorganismen bei Temperaturen zwischen 40—65° C, die der tierische Organismus selbst nicht aufweist. Die Futtermasse weist jedoch während der Verdauung Temperaturen von über 40° C auf.

Bei den vergleichenden Untersuchungen mit verschieden leicht verdaulicher Rohfaser verschiedener Futterstoffe ergab sich im Einklang mit früheren Feststellungen, daß mit zunehmender Inkrustierung der Zellulose ihre Verdaulichkeit und Zersetzbarkeit durch die Bakterien abnimmt, daß aber diese Abnahme nicht von der Menge der inkrustierenden Substanzen, sondern von der Innigkeit, mit der diese mit der Zellulose verbunden sind, abhängig ist. Rohfaser wird im Laboratoriumsversuch — wohl infolge der voraufgegangenen chemischen Behandlung — ungleich vollkommener zersetzt als die unbehandelten Faserstoffe des gleichen pflanzlichen Futters im Tier verdaut werden. Die Zersetzung der Faser des unveränderten Futters verläuft im Laboratoriumsversuch ebenfalls sehr viel langsamer als diejenige der chemisch behandelten und offenbar aufgelockerten Rohfaser. Ein Parallelismus zwischen bakterieller Zersetzung in vitro und tierischer Verdauung konnte aber nicht festgestellt werden. Bortels (Berlin-Dahlem).

Kubiena, W., Über Fruchtkörperbildung und engere Standortwahl von Pilzen in Bodenhohlräumen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 507—542.)

Durch Anwendung von Spezial-Beleuchtungsapparaten wie in der Erzmikroskopie, die eine Beobachtung im auffallenden Licht bei mittleren bis starken Vergrößerungen erlaubt, untersucht Verf. die Hohlräume von vorsichtig entnommenen Bodenproben entweder nach sofortiger Trocknung der Proben oder nach Aufbewahrung in Mikrokulturschälchen, in denen der Boden „biologisch aktiv" erhalten wurde. Mit Hilfe feiner Nadeln usw. konnten solche Hohlräume weiter eingehend untersucht werden.

Besonderer Wert wurde auf die Auffindung von Fruchtkörpern gelegt und weiter darauf, die beobachteten Typen unter dem Mikroskop zu isolieren, dann zu kultivieren und das Bild der Reinkultur mit demjenigen des natürlichen Bodens zu vergleichen, wobei sich in den Wuchsformen charakteristische Unterschiede herausstellten.

Untersucht wurden ein Teichuferboden, ein alkalischer Ackerboden, ein saurer Gebirgsboden und ein anmooriger Schwemmlandboden, also sehr verschiedene Typen. Fruchtkörper wurden festgestellt von folgenden Arten: Mucor racemosus, alternans, spec., Rhizopus nodosus (Mucor norvegicus Hagem), Achlya gracilipes, Penicillium spec. (?), Oedocephalum glomerulosum, Hyalopus crystallinus, Mycogone spec. (?), Sporotrichum spec., Acladium spec., Coëmansia spec., Periconia spec., Cladosporium spec., Actinomyces spec.

Auffallend ist jedenfalls, daß die als so verbreitet geltenden Penicillium- und Aspergillus-Arten bis auf einen zweifelhaften Vertreter völlig fehlen und andererseits hauptsächlich Pilze gefunden wurden, die im Boden als selten gelten. Sporangienbildung bei Mucorineen setzt Vorhandensein größerer Hohlräume voraus (Ausnahme bildet Rh. nodosus). Größere, nicht unmittelbar mit der Bodenfläche in Verbindung stehende Hohlräume enthielten eine besonders üppige und reichlich fruchtende Pilzvegetation.

Für die einzelnen Arten ist auch der Mikrostandort angegeben, z. B. auf Bodeninsekten, pflanzlichen Rückständen, Humusteilchen, parasitisch auf anderen Pilzen (wie Mucor spec. auf Rhizopus nodosus) usw. Bezüglich weiterer Einzelheiten muß auf die aufschlußreiche Arbeit selbst verwiesen werden. A. Rippel (Göttingen).

Fehér, D., Experimentelle Untersuchungen über die mikrobiologischen Grundlagen der Schwankungen der Bodenazidität. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 609—633.)

Da die wenigsten Bodenproben sofort nach der Entnahme in naturfeuchtem Zustand untersucht werden, so sind die nachträglichen Veränderungen von großer Wichtigkeit, werden aber im allgemeinen noch wenig beachtet. Trocknen der Proben 24 Std. bei 105° C erniedrigt den p_H-Wert stark; die Unterschiede bewegten sich zwischen — 0,27 und — 2,02; meist lagen sie etwas unter — 1,0. Doch nimmt der Boden bei Wiederanfeuchten und Lagerung allmählich seinen ursprünglichen p_H-Wert wieder an. Diese Veränderungen sind chemisch-physikalischer Natur.

Läßt man Boden in feuchtem Zustand stehen, so zeigen die p_H-Werte dauernd Schwankungen, die zuerst größer sind, später abflauen; im allgemeinen ist jedoch eine Tendenz zum Steigen zu erkennen. Läßt man also Boden lufttrocken werden, so läuft man Gefahr, irgendeinen der Schwankungswerte zu erhalten; man muß also möglichst sofort in naturfeuchtem Zustande untersuchen.

Diese Veränderungen sind mikrobiologischer Natur; feucht sterilisierte Proben behalten ihren (gegenüber dem Ausgangswert allerdings tieferen) p_H-Wert. Nachträgliche Infektion verursacht wieder das Auftreten der Schwankungen wie in normalen Proben. Weiter konnte gezeigt werden, daß diese Schwankungen mit solchen der Zahl der Mikroorganismen parallel gehen. Das Steigen der p_H-Zahl führt Verf. auf den Verbrauch saurer Humusstoffe zurück. Alle Versuche wurden an Waldböden ausgeführt.

Rippel (Göttingen).

Gistl, R., Zur Kenntnis der Erdalgen. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 634—649.)

Für die Zusammensetzung der Algenflora des Bodens und für die Erscheinungsform der einzelnen Arten sind die chemisch-physikalischen Bedingungen ausschlaggebend. So hängt nach seinen Versuchen die Individuengröße von Diatomeen ab von dem Ionen-Gemisch; mit Zunahme der Sulfat-Konzentration (geprüft bis 0,2 Mol. Na_2SO_4) nimmt die Individuengröße zu bei gleichzeitiger Vermehrung der Zahl der Individuen. Bei Zusatz von Rhodan waren die Individuen klein und gering an Zahl.

Auffallend ist ferner die Erscheinungsform von Scenedesmus, die in Rhodanlösung ihre 4-Zahl völlig aufgab; es entstanden vielzellige, unregelmäßige Komplexe; die Stacheln der Endzellen verschwanden. Bei Ulothrix bewirkte 0,2 Mol. Na_2SO_4 gegenüber Leitungswasser, daß die Zellen viel breiter als hoch wurden und einen auffallend dicken Chromatophoren besaßen. Für natürliche Befunde ist also das Ionengemisch des Substrates zu beachten.

Anschließend wird die Algenflora von einem Wald-, zwei Lehm- und einem Sandboden beschrieben. Eremosphaera viridis wurde erstmalig als Bodenbewohner festgestellt, ferner wurde die neue Form Pe-

diastrum Sturmii var. inaculeatum aufgefunden, die charakterisiert ist durch das Fehlen der Bestachelung der Randzellen; ein emergenzenloses Pediastrum war bisher noch nicht bekannt. Düngung eines Bodens mit Ammoniumsulfat befördert das Wachstum von Diatomeen.

Mikroskopisch völlig gleich aussehende Chlamydomonas-Formen aus verschiedenen Böden verhielten sich physiologisch verschieden; aus dem einen Boden waren sie nur in Meerwasser zu züchten, aus einem anderen nur in Nährlösungen für Süßwasseralgen. Rippel (Göttingen).

Liese, W., Die chemische Zellatmung als Hilfsmittel der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 124. 1932. S. 560—568.)

Verf. hat in dem Nitroantrachinon einen „Test" (NT) gefunden, der in seinem Ergebnis den bakteriologischen Charakter eines Wassers widerspiegelt, vor allem aber „rezente" Wasserinfektion mit Sicherheit zu erkennen gibt. Versuchsanordnung: Zu 1 ccm gewöhnlicher Bouillon mit ph 7,5 wird 1 ccm Wasser gegeben (von jeder Wasserprobe sind 10 Röhrchen dieser Art anzusetzen), ca. 20 Std. Bebrütung bei 37°, Zugabe von 0,5 ccm wässeriger Nitroantrachinon-Lösung 1 : 50 (frisch mit gewöhnl. Leitungswasser bereitet, nach kurzem Aufkochen filtrieren und nach Erkalten einpipettieren), Einstellen ins Wasserbad von 40° auf 4 Std., Ablesen des aufgetretenen Rötungsgrades (0, + zart gelblich-rot, ++ deutlich zart-rot, +++ rot bis tief dunkel-rot). Zweifelhaft wird die Beurteilung, wenn der Befund NT ++ erhoben wird (zumindest ist mit hoher Keimzahl zu rechnen), selbst wenn einige Röhrchen einen NT 0 geben. Tritt aber noch vereinzelt NT +++ hinzu, so ist das Wasser verdächtig. Weiteres über die Auswertung des NT im Original. Rodenkirchen (Duisburg).

Schloßmann, K., Über das Vorkommen von Bakteriophagen im Wasser. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 114. 1932. S. 65—76.)

Unter hygienisch günstigen Bedingungen liegende Oberflächenwasser waren stets bakteriophagenarm oder sogar bakteriophagenfrei (so alle aus 12 Brunnen entnommenen Wasserproben). Wasserproben mit reichlichem Bakteriophagengehalt stammten stets aus Entnahmestellen, wo eine primäre fäkale Verunreinigung von vornherein anzunehmen war. In erster Linie ließen sich dann Bakteriophagen gegen Ruhrbazillen feststellen. Fanden sich aber außerdem Bakteriophagen gegen die Coli-Typhusgruppe, so konnte immer mit einer stärkeren fäkalen Verunreinigung des Wassers gerechnet werden. Rodenkirchen (Duisburg).

Heiduschka, A., und **Göbel, J.,** Untersuchungen über die Beeinflussung von Belebtschlamm durch in industriellen Abwässern vorkommende Bestandteile. (Chemiker-Ztg. Bd. 56. 1932. S. 589—590.)

In mehreren größeren Versuchsreihen wurde geprüft, ob Abwässer auch bei mehr oder minder großem Gehalt an gewissen Zellgiften, wie Laugen, Säuren, Chlor u. a., durch Belebtschlamm gereinigt werden können. Es zeigte sich, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen erst relativ große Mengen von solchen Giften den Belebtschlamm inaktivieren. Er konnte auch allmählich an bakterizide Stoffe, wie Kupfersulfat, in größeren Kon-

zentrationen gewöhnt werden. Wurde die schädigende Wirkung von Phenol gleich 1 gesetzt, dann ergaben sich für die anderen Stoffe folgende Werte: Kresol 2, Schwefelnatrium 6,5, schweflige Säure 9,7, Ätznatron 20,4, Schwefelsäure 167, Kupfersulfat 218, Chlor 430. Bortels (Berlin-Dahlem).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Hockenyos, G. L., und **Irvin, G. R.,** Studies on Bordeaux deposition. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 857—860.)

Die Untersuchungen der Verff. zeigten zunächst, daß je nach der Entfernung der Spritzbrühe von dem zu bespritzenden Blatt nach verschiedenen Zeiten ein Ablaufen der Spritzbrühe erfolgt. Durch Zusatz von verschiedenen Benetzungsmitteln wurde zwar kein stärkerer Spritzbelag erzielt, es wurde aber die Bildung von einzelnen größeren Flecken vermieden. Es zeigte sich ferner, daß auf der Unterseite von Pfirsichblättern doppelt so viel Brühe haftete als auf der Oberseite.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

de Ong, E. R., Fungicidal value of pine-tar oil and copper resinate. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 861—864.)

Aus einem besonders präparierten Kiefernteeröl, das als „Palustrex" im Handel ist und Kupferresinat, das bekanntlich nicht in Wasser löslich ist, kann nach Ansicht des Verf.s ein gutes Mittel gegen Insekten und Pilze hergestellt werden. Die angeführten biologischen Versuche dürften aber für die Beurteilung der insektiziden und fungiziden Wirkung noch nicht ausreichend sein. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Pierstoff, A. L., A centralized scab-spray service. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 759—766, 2 Abb.)

Verf. beschreibt die Organisation des Dienstes zur Bekämpfung des Apfelschorfes in Ohio. 25 Mitarbeiter senden vom Schwellen der Knospen an bis zum Aufbruch der Blütenknospen aus allen Teilen des Landes dreimal wöchentlich telegraphisch kurze Angaben über den Stand der Entwicklung der Bäume an eine Zentrale. Als Anleitung dienen den Mitarbeitern bunte Bilder, die die Entwicklung der Knospen bis zum Blütenaufbruch zeigen. Eine weitere Gruppe von Mitarbeitern — in vielen Fällen dieselben, die die Mitteilungen machen — sendet dreimal wöchentlich Blätter aus der vorhergehenden Vegetationsperiode, an denen der Prozentsatz der reifen Sporen festgestellt wird. Schließlich geben Wettervorhersagestellen die voraussichtliche Temperatur, Niederschlagsmenge und Windstärke für die nächsten 2—3 Tage an. Auf Grund dieser 3 Faktoren werden die Anweisungen für die Bekämpfung gegeben. Die Verbreitung der Nachrichten erfolgt täglich durch Radio. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Rippel, K., Über die Wirkung von Fungiziden auf Cladosporium fulvum Cooke und die Aussichten einer chemotherapeutischen Bekämpfung des Pilzes. Zugleich ein Beitrag zu den Arbeitsmethoden der experimentellen Phytopathologie. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 3. 1932. S. 543—558.)

Vorbedingung für eine vergleichende Verwertbarkeit von Versuchsergebnissen wie den vorliegenden ist Konstanz der Sporenzahl, da eine größere Anzahl die Sporen resistenter erscheinen läßt und umgekehrt. Der Verf. ver-

wendet stets 2000 Sporen je Platinöse (0,001 ccm Flüssigkeit). Versuchsobjekt war Cladosporium fulvum und zum Vergleich Cl. herbarum, Botrytis cinerea und spec., Penicillium spec. Den geprüften Fungiziden (Uspulun, Quecksilberchlorid, Silbernitrat, Kupfersulfat, Natriumkarbonat) gegenüber hatte Cl. fulvum stets die größte Resistenz, so daß Verf. der Möglichkeit einer chemotherapeutischen Bekämpfung dieses Tomatenschädlings sehr skeptisch gegenübersteht.

Nur gegen das ebenfalls geprüfte Kochsalz war Botrytis spec. am resistentesten. Verf. glaubt, daß dieser Pilz auf Cl. fulvum parasitisch lebe, was die höheren Saugkräfte erklären würde.

Verf. weist weiter darauf hin, daß es hinsichtlich praktisch zu verwertender Ergebnisse nicht richtig sei, mit Sporen einer reinen Linie zu arbeiten, sondern es müsse „natürliches Material", also Sporen aller möglichen Altersstufen und Stämme verwendet werden. In dieser Hinsicht unterscheide sich „angewandte" Botanik methodisch wesentlich von der unter konstanten Bedingungen (einheitliches Material) arbeitenden „reinen" Botanik.

A. Rippel (Göttingen).

Winkelmann, A., Untersuchungen über die Haftfähigkeit von Trockenbeizmitteln. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 45. 1932. S. 238—241.)

Die Haftfähigkeit von Trockenbeizmitteln wird durch das Tausendkorngewicht und den Wassergehalt des Getreides nicht beeinflußt. Verschiedene Getreidearten wirken sich nicht in dem Maße auf die Haftfähigkeit aus, wie dies allgemein angenommen wird. Man kann deshalb schon auf Grund von Versuchen an einer Getreideart Schlüsse auf die Haftfähigkeit ziehen. Es ist nicht nötig, diese Versuche durch Beizung im Apparat vorzunehmen, es genügt Beizen kleiner Proben in einem rotierenden Schüttelapparat. Durch Verwendung mehrerer Sorten schließt man etwaige Zufälligkeiten der besonderen Beschaffenheit des Kornes bei einer Sorte aus. Um die Brauchbarkeit von Trockenbeizmitteln in kontinuierlich arbeitenden Beizapparaten festzustellen, ist die Haftfähigkeit an Proben zu ermitteln, die 0,5, 1,2, und 3 Min. im Kolben gebeizt sind. Kupferkarbonat läßt sich für die Prüfung von kontinuierlich arbeitenden Apparaten nicht verwenden, da es bei infiziertem Weizen stark zur Krümelbildung neigt und schlechter als bei nichtinfiziertem Saatgut haftet. Bei der Beurteilung der fungiziden Wirkung von Trockenbeizmitteln gegen Weizensteinbrand können die Ergebnisse der Proben, die mit der für die Anwendung in der Praxis bestimmten Aufwandmenge im Kolben gebeizt wurden, für die Bewertung herangezogen werden, vorausgesetzt, daß sich das betreffende Mittel wie die geprüften verhält und bei infiziertem Weizen besser als bei nichtinfiziertem haftet. Der Verlust bis zur Aussaat ist bei infiziertem Weizen dann sehr gering.

Heuß (Berlin).

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 17. Januar 1933.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 87. No. 24|26.

Ausgegeben am 16. März 1933.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 87 enthaltenen Arbeiten.

Acqua, C., Contributions à la connaissance de la nature des ultravirus. Recherches sur la maladie à polyèdres chez les insectes (Bombyx mori L.). 184

—, Les altérations provoqués par la maladie à polyèdres chez le Bombyx mori étudiées suivant les nouvelles méthodes de coloration. 184

Alben, A. O., Cole, J. R., and **Levis, R. D.,** Chemical treatment of pecan rosette. 176

Alcock, R. S., s. **Cook, R. P.**

Alcoff, B., Über die organische Ernährung der Ankistrodesmus falcatus (Corda) Ralfs. (Orig.) 340

Allen, H. W., and **Warren, A. J.,** The results from two years experiments in mass liberations of Trichogramma minutum against the oriental fruit moth. 180

—, **Mail,** pH and wireworm incidence. 380

—, **N.,** s. **Smith, C. E.**

—, **T. C.,** and **Riker, A. J.,** A rot of apple fruit caused by Phytomonas melophthora n. sp., following invasion by the apple maggot. 287

Almon, Lois, Concerning the reproduction of bacteroids. (Orig.) 289

Anderson, D. A., s. **Walker, R. H.**

Anslow, W. K., s. **Raistrick, H.**

Ark, P. A., The behavior of Bacillus amylovorus in soil. 286

Arnaud, G., et **Barthelet, J.,** Recherches sur les depérissements des arbres d'alignement. 284

Arthur, J. C., Terminologie der Uredinales. 73

Asai, Toshinobu, s. **Takahashi, Teizo.**

Austin, M. D., Observations on the hibernation and spring oviposition of Lygus pratensis Linn. 91

Bach, W. J., and **Taubenhaus, J. J.,** Resistance of the Turk' scap hibiscus, Malvaviscus conzattii, to Phymatotrichum root rot. 174

Bachmann, W., Über Fernwirkung einer Hefekultur auf Mikroorganismen. 71

Bally, W., Düngung von Kaffeegärten, die von Älchen infiziert sind. (Bemesting van koffietuinen, dei door aaltjes besmetzijn. Voorlopig verslag.) 288

Barnhart, J. L., s. **Thurston, L. M.**

Barrit, N. W., The liberation of elementary nitrogen by bacteria. 480

Barthelet, J., s. **Arnaud, G.**

Baumann, J., Zur Frage des Zusammenhanges zwischen Schmutzgehalt und Keimzahl der Milch. 366

Becker s. **Pfeiler, W.**

Beckwith, T. D., The bacteriology of pulp slime. 374

Bendixen, H. A., s. **Prouty, Ch. C.**

Berichtigung, Löweneck, M., Untersuchungen über Würzebakterien. Bd. 87, Tab. 5, S. 53. 288

Bertho, A., Über den Atmungsprozeß der Milchsäurebakterien. 481

Betrem, J. G., Ambrosia-Käfer (Ambrosia kevers). 381

—, Weiße Läuse. (Withe luis.) 378

—, Zweigsterben und Borkenkäfer. (Takkensteifte en boebeek.) 94

Birch-Hirschfeld, L., Über den Einfluß von Molybdän und Bodenextraktstoffen auf die N-Bindung von Azotobacter chroococcum. 362

Birkinshaw, J. H., s. a. **Raistrick, H.**

—, and **Raistrick, H.,** II. Quantitative methods and technique of investigation of the products of metabolism of microorganisms. 171

—, **Callow, R. K.,** and **Fischmann, C. F.,** Studies in the biochemistry of microorganisms. XXII. The isolation and characterisation of ergosterol from Penicillium puberulum Bainier grown on a synthetic medium with glucose as sole source of carbon. 481

—, **Charles, J. H. V., Raistrick, H.,** and **Stoyle, J. A. R.,** III. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by species of Aspergillus. 73

—, —, **Hetherington, A. Cl.,** and **Raistrick, H.,** with an appendix by **Thom, Ch.,** IV. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by species of Penic. (including Citromyces). 74

—, —, **Raistrick, H.,** and **Stoyle, J. A. R.,** V. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the

types of products formed from glucose by species of Fusarium. 74
Birkinshav, J. H., Charles, J. H. V., Hetherington, A. Cl., and **Raistrick, H.,** VI. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by miscellaneous species of fungi. 74
—, —, and **Clutterbuck, P. W.,** Studies in the biochemistry of micro-organisms. XXI. Quantitative examination by the carbon balance sheet method of the types of products formed from glucose by species of bacteria. 75, 481
Bischoff, Hans, s. Die **Tierwelt** Deutschlands.
Black, L. A., Prouty, C. C., and **Graham, R. A.,** The effect of pasteurization on the bacterial flora of low count milk. 274
Blank, L. M., The pathogenicity of Fusarium conglutinans Wr. at low soil temperatures. 88
Bockmann, H., Ein Beitrag zur Biologie und wirtschaftlichen Bedeutung des Erregers der Braunfleckigkeit des Weizens: Macrophoma hennebergii (Kühn). 89
Bodenheimer, F. T., Der Massenwechsel im Tierreich. 382
Böhme, Bekämpfung der Dörrobstmotte. 182
Boekhout, F. W. J., und **Brouwer, E.,** Röntgenologische Untersuchungen von Käse. 372
Böving, A. G., and **Craighead, F. C.,** An illustrated synopsis of the principal larval forms of the order of Coleoptera. 478
Bohnan, Th., s. **Schuurmans Stekhoven, I. H. jr.**
Bordas, J., s. **Joessel, P. H.**
Bovien, P., Die Lauchmotte. (Om Porremolett [Acrolepia assectella Zell.]) 379
—, On a new nematode, Scatonema wülkeri gen. et spec. n. parasitic in the body-cavity of Scatopse fuscipes Meig. (Diptera nematocera). 384
Braunstein, A. E., und **Lewitow, M. M.,** Biochemische Veresterung von Arsensäure durch Hefe. 363
Breed, R. S. and **al.,** Methods for use in the bacteriological examination of dry milk and related powders. 275
Brewer, P. H., s. **Kraybill, H. R.**
Broadhurst, L., and **Krug, E.,** Control of spreaders in milk plates. 274
Brouwer, E., s. **Boekhout, F. W. J.**
Brown, P. E., s. **Walker, R. H.**
—, **R. C.,** Observations on the satin moth and its natural enemies in Central Europe. 179
Bünger, H., Seelemann, M., Werner, A., Wolf, C. H., und **Sorge, G.,** Ist die Gewinnung von Vorzugsmilch bei Verfütterung von frischen Rübenköpfen und -blättern möglich? 370
Butschowitz, T., Zur Frage der sogenannten „Bakteroide" bei Lumbricus terrestris. 187
Byk-Guldenwerke, chemische Fabrik A.-G., Berlin, Verfahren zur Herstellung von Glykonsäure. 266

Cable, R. M., s. **Stunkard, H. W.**
Callow, R. K., s. **Birkinshaw, J. H.**
Celino, M. S., A fungous disease of the coconut leaf-miner (Promecotheca cumingii Baly). 184
Chalmers, C. H., Some observations on species of Actinomyces found in samples of milk. (Orig.) 1
Charles, J. H. V., s. **Birkinshaw, J. H.,** und **Raistrick, H.**
Charlton, D. B., Studies on Lactobacillus thermophilus. 369
Chaudhuri, H., Sclerospora graminicola on bajra (Pennisetum typhoideum). 89
Christian, M. J., s. a. **Hiscox, E. R.**
—, A contribution to the bacteriology of commercial sterilised milk. Part II: The „coconut" or „carbolic" taint. 77
—, **W.,** s. **Warburg, O.**
Clutterbuck, P. W., s. **Birkingshaw** und **Raistrick, H.**
Cobb, Mary J., A quantitative study of the microorganic population of a hemlock and a deciduous forest soil. 82
—, **N. A.,** Some recent aspects of Nematology. 178
Cole, J. R., s. **Alben, A. O.**
Collins, E. V., s. **Drake, C. J.**
Conn, H. J., The cholodny technic for the microscopic study of the soil microflora. (Orig.) 233
Cook, R. P., and **Alcock, R. S.,** The effect of hydrogen ion concentration on some oxidations by B. coli communis. 65
—, and **Haldane, J. B. S.,** The respiration of B. coli commune. 65
—, —, and **Mapson, L. W.,** The relationship between the respiratory catalysts of B. coli. 65
Coyne, F. P., s. a. **Raistrick, H.**
—, and **Raistrick, H.,** Studies in the biochemistry of micro-organisms. XX. On the production of manitol from hexoses and pentoses by a white species of Aspergillus. 75
Craighead, F. C., s. **Böving, A. G.**
Cron, H., Erfahrungen mit der Bekämpfung von Schädlingen und Krankheiten auf der Rübensamenzuchtstation in Semčice. I. 84
Crowther, E. M., and **Richardson, H. W.,** Studies on Calcium cyanamide. I. 82

Dahlberg, A. C., and **Marquardt, J. C.,** Sterilization of dairy farm utensils with dry heat. 371
Dam, W. van, und **Vedder, A.,** Die ph-

Messung von festen Nährböden in der Bakteriologie. 171
Davey, A. E., s. **Hansen, H. N.**
Deger, H., Untersuchungen über das Vorkommen von Milchsäurebakterien auf grünen Futterpflanzen. 373
Demeter, K. J., und **Mossel, H.**, Zur Bekämpfung der Braunfleckigkeit von Camembert-Käse (Erreger: Penicillium brunneo-violaceum Biourge). 371
Dhein, A., s. **Remy, Th.**
Diddens, H. A., Untersuchungen über den Flachsbrand (verursacht durch Pythium megalacanthum de Bary). 284
Diernhofer, K., Aeskulinbouillon als Hilfsmittel für die Differenzierung von Euter- und Milchstreptokokken bei Massenuntersuchungen. 369
—, Über das Vorkommen von Streptokokken vom „Lactistyp" im lebenden Kuheuter. 368
Dilton Weston, W. A. R., The reaction of disease organisms to certain wavelengths in the visible and invisible spectrum. II. Reaction of urediniospores to visible light: Wave lengths between 400 and 780 μμ. 364
Dold, H., Ein neues färberisches Einteilungsprinzip für Bakterien. 270
Drake, C. J., Travis, B. V., and **Collins, E. V.**, A preliminary report on the control of white grubs with a rotary plow. 93
Düggeli, M., Zur Frage der Bodenimpfung. (Orig.) 297

Eckles, C. H., s. **Wallis, G. C.**
Eichbaum, F., Erfahrungen und Beobachtungen an säurefesten Stäbchen (Wasserbakterien, Leprabazillen, Tuberkelbazillen). I. Beobachtungen an säurefesten Wasserbakterien. 83
Eisenberg, K. B., Die Sichtbarmachung von Innenstrukturen in Bakterien und anderen Mikroorganismen. 264
Elion, E., Die fabrikmäßige Herstellung von Reinhefe und die Hefereinzucht in der Entwicklungsgeschichte der Brauerei. 278
Elling, M., Eine interessante Erscheinung. 380
Elze, D. L., Die Übertragbarkeit mit dem Samen von Aukuba-Mosaik sowie Blattroll (Phloemnekrose) der Kartoffel. 287
Engel, E. O., Omphralidae und Asilidae. (Die Tierwelt Deutschlands, 26. Teil.) 477
Epstein, A. K., Züchten von Hefe. 266
Esau, K., s. **Mackie, W. W.**
Eschenbrenner, H., und **Rosenberg, G.**, Theoretische und praktische Versuche über Anwendung von Nipasol-Natrium als Konservierungsmittel in der Apotheke. 190
Esmarch, F., Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. — Monographien zum Pflanzenschutz. Herausgeg. v. Prof. Dr. H. Morstatt. Stück 8. 170
Etinger-Tulizynska, R., Über Bakterienantagonismus. 70
Everdingen, W. A. G., s. **Idzerda, J.**
Ezekiel, W. N., s. a. **Taubenhaus, J. J.**
—, —, and **Fudge, J. F.**, Growth of Phymatotrichum omnivorum in plant juices as correlated with resistance of plants to root rot. 174

Falck, R., Die Scheindestruktion des Koniferenholzes durch die Larven des Hausbockes (Hylotrupes bajulus L.). 191
—, Verfahren zur Herstellung von Glykonsäure. 172
Falke, William, Zur hygienischen Untersuchung und Beurteilung der Marktmilch einer Großstadt Mitteldeutschlands. 78
Fehér, D., Eine neue Methode zur Züchtung und quantitativen Erfassung der Lebenstätigkeit der Bodenbakterien. 264
—, Experimentelle Untersuchungen über die mikrobiologischen Grundlagen der Schwankungen der Bodenazidität. 493
Feistritzer, W., Merkmale zum Erkennen flugbrandkranker Pflanzen bei Winter- und Sommergerste vor dem Ährenschieben. 85
Fernbach, A., Yuill, J. L., McLellan, B. C., und **Rowntree & Co. Ltd.**, Verfahren zur Herstellung von Zitronensäure mit Pilzen. 266, 267
Fetzer, H., s. **Selter, H.**
Feucht, W., Die Wirkung des Steinbrandes Tilletia tritici (Bjerk.) W. und Tilletia foetens (Berk. et Curt.) Tul. auf verschiedene Winterweizensorten bei künstlicher Infektion in ihrer Abhängigkeit von äußeren Faktoren. 285
Fischmann, C. F., s. **Birkinshaw, J. H.**
Flor, H. H., The effect of delayed planting on the control of bunt by copper carbonate. 176
—, The production of bunt chlamydospores in the vegetative tissue of the wheat plant. 175
Forsteneichner, Fr., Die Jugendkrankheiten der Baumwolle in der Türkei. 285
Frey, A., und **Poschenrieder, H.**, Beziehungen zwischen Säurebildung und Myzelgewichtsbeeinflussung bei Aspergillus niger. 364
Friedberger, E., und **Hoder, F.**, Lysozym- und Flockungsphänomen des Hühnereiklars. 270
Fudge, J. F., s. **Ezekiel, W. N.**
Fuhrmann, F., Eine neue Plattengußvorrichtung. 264
Fulmek, L., Die San-José-Schildlaus (Aspidiotus perniciosus Comst.) in Mitteleuropa. 378

Gardner, M. W., s. **Kraybill, H. R.**
Gaßner, G., Über Verschiebungen der Rostresistenz während der Entwicklung der Getreidepflanzen. 285
—, und **Goeze, G.**, Zur Frage der Frosthärtebestimmung durch refraktometrische Untersuchung von Pflanzenpreßsäften. 384
—, und **Straib, W.**, Zur Frage der Konstanz des Infektionstypus von Puccinia triticina Erikss. 87
Ghabn, A., Zur Biologie und Bekämpfung eines neuen Nelkenschädlings aus der Gruppe der Thysanopteren in Ägypten. 178
Ginsburg, J. M., and **Schmitt, B.**, A comparison between rotonone and pyrethrins as contact insecticides. 383
Gistl, R., Zur Kenntnis der Erdalgen. 493
Glaser, R. W., On the isolation, cultivation and classification of the so-called intracellular „symbiont" or „Rickettsia" of Periplaneta americana. 183
Glaubitz, M., Atlas der Gärungsorganismen. 262
Göbel, J., s. **Heiduschke, A.**
Goetze, G., und **Schleusener, W.**, Versuche zur Bekämpfung der Weidenblattkäfer. 182
Goeze, G., s. **Gaßner, G.**
Goffart, H., Versuche zur Bekämpfung der Kohlfliege (Phorbia brassicae Bché.) mit Naphthalin. 182
Goodey, T. (London), Leaf blotch in Verbena venosa caused by Aphelenchus ritzemabosi. 176
—, New hosts of Anguillulina dipsaci (Kühn, 1858) Gerv. and v. Ben. 1859, with some notes and observations on the biology of the parasite. 176
—, On the nomenclature of the root-gall nematodes. — Some observations on the biology of the root-gall nematode Anguillulina radicicola (Greeff 1872). — The genus Anguillulina Gerv. et v. Ben. 1859, vel Tylenchus Bastian, 1865. 177
Gorcica, H. J., s. **Pruess, L. M.**
Gorini, C., Über die Milchgerinnung durch Bact. typhi und andere parasitische, angeblich gerinnungsfähige Bakterien. 485
Gottschalk, H., Über die Beeinflussung der oligodynamischen Wirkung. 66
Gräf, G., s. **Ruschmann, G.**
Graham, R. A., s. **Black, L. A.**
Graßmann, W., Zechmeister, L., Toth, G., und **Stadler, R.**, Zur Spezifität polysaccharidspaltender Enzyme. 366
Greene, H. C., s. **Pruess, L. M.**
Gross, H., Die Kulturfiltrate der Staphylokokken und deren Beziehungen zueinander. 188
Gutschy, Louis, Résultats obtenus dans la culture du soja avec et sans infection artificielle (Rezultati poljskih pokusa cijepljenom i necijepljenom sojom (en croatoserbe avec éxtrait allemand). 279

Haasis, F. W., A study of laboratory methods for investigating the relation between moisture content of wood and fungal growth. 89
Habermann, H., s. **Oldenburg, F.**
Haehn, H., Herstellung von Zitronensäure aus Kohlenhydraten mittels Schimmelpilzen. 172
Haldane, J. B. S., s. **Cook, R. P.**
Hamburg, M., s. **Jalowetz, E.**
Hamilton, W. B., Gum production by azotobacter chroococcum of Beijerinck and its composition. 270
Hammer, B. W., and **Hussong, R. V.**, Action of an aerobic sporeforming organism on evaporated milk. 267
—, and **Yale, M. W.**, Development of the Escherichia Aerobacter-group of bacteria in butter. 277
Hansen, H. N., and **Davey, A. E.**, Transmission of smut and molds in figs. 89
—, **P. Arne**, The public health significance of the growth of thermophilic bacteria in pasteurized milk. 370
Harden, A., and **Macfarlane, M. G.**, Note on the reactivation of reductase in washed yeast preparations. 365
Hart, P. C., Der Stengelbohrerbefall der Zuckerrohrsorten im Erntejahr 1931. (De topboorderaantasting der rijpheidsmonsterstokken in oogstjaar 1931.) 379
Hartzell, A., and **Wilcoxon, F.**, Some factors affecting the efficiency of contact insecticides. II. Chemical and toxological studies of pyrethrum. 93
—, **F. Z.**, Relation of shelter to abundance of pear midge. 92
Harvey, H. W., s. **Miller, J. H.**
Hassebrauk, K., Zur Bewertung der Saugkraft als Merkmal von Braunrostbiotypen. 377
Haselhoff, E., Grundzüge der Rauchschadenkunde. Anleitung zur Prüfung und Beurteilung der Einwirkung von Rauchabgängen auf Boden und Pflanzen. 263
Haupt, H., s. **Klimmer, M.**
Headlee, Th. J., The problem of codling moth control. 383
Hefefabrik A. G. Olten (Schweiz), Verfahren zur Erzeugung von Hefe. 265
Heiduschka, A., und **Göbel, J.**, Untersuchungen über die Beeinflussung von Belebtschlamm durch in industriellen Abwässern vorkommende Bestandteile. 494
Heinbecker, P., s. **Wells, J. R.**
Henderson, R. G., s. **Pettinger, N. A.**
Henneberg, W., und **Knlefall, Über** die Gruppe Scopulariopsis brevicaule (= Penicillium brevicaule). 482

Hermann, S., und **Neuschul, P.,** Milchsäure- und Brenztraubensäure-Abbau durch Essigbakterien. 480
Herz, H., Zusammenhänge zwischen der Rahmsäuerungsmethode und der Butterqualität. 488
Hetherington, A. C., s. **Birkinshaw** und **Raistrick, H.**
Hewitt, L. F., Effect of bacteriophage on oxidation-reduction potentials of B. dysenteriae (Shiga) cultures. 70
—, Effect of lysozyme on the oxidation-reduction potentials of M. lysodeikticus cultures. 69
Hill, C. C., Heterospilus cephi Rohwer, a parasite of the European wheat sawfly, Cephus pygmaeus L. 180
Hinds, W. E., and **Osterberger, B. A.,** Results of Trichogramme colonization on sugar cane borer damage in Louisiana in 1931. 180
Hinsberg, K., und **Holland, G.,** Die Beeinflussung der Milchsäuregärung in der Milch durch Monojodessigsäure. 485
Hiscox, E. R., and **Christian, M. J.,** A contribution to the bacteriology of commercial sterilised milk. Part I. General. 77
—, —, A contribution to the bacteriology of commercial sterilised milk. Part III. The basis of control. 77
Hockenyos, G. L., und **Irvin, G. R.,** Studies on Bordeaux deposition. 495
Hoder, F., s. a. **Friedberger, E.**
—, Die oligodynamische Wirkung destillierten Wassers und ihre praktische Bedeutung. 83
Hoeppli, R., and **Hsü, H. F.,** Histological changes in the digestive tract of vertebrates due to parasitic worms. 185
Hoffmann, W. H., Über das Wesen der Virusse. 271
Holland, G., s. **Hinsberg, K.**
Horn, Otto, Die Entwicklung unserer Vorstellungen über die Entstehung der Kohlen. 374
Horowitz-Wlassowa, L. M., und **Nowotelnow, N. W.,** Über eine sporogene Milchsäurebakterienart, Lactobacillus sporogenes n. sp. (Orig.) 331
— - —, und **Rodionowa, E. A.,** Über die Azetongärung. (Orig.) 333
Hostettler, H., Die Anwendung der Gasanalyse zur Abklärung der Gärung im Hartkäse. 372
Houben, J., Über insektentötende Pflanzenstoffe. 383
Hsü, H. F., s. **Hoeppli, R.**
Hurst, C. T., und **Strong, J. C.,** Über die Kultivierung der Mitochondrien in vitro. 173
Hussong, R. V., s. **Hammer, B. W.**
Idzerda, J., und **Everdingen, W. A. G. van,** Zur Kenntnis der Änderungen, die in Blutnährböden durch Streptokokken, Typus a (Brown) verursacht werden. I. Mitt. 68
—, —, II. Mitt.: Über die Wirkung von sterilen Agarfiltraten auf kleine Erythrozytenmengen. — III. Mitt.: Über die Wirkung von sterilen Bouillonfiltraten und von geringen H_2O_2-Konzentrationen auf kleine Erythrozytenmengen. 68
Imperial bureau of Agricultural Parasitology. Differential diagnosis of plant-parasitic eelworms. 177
Imperial bureau of Agricultural Parasitology. On the eelworm Heterodera schachtii as a potential danger to the sugar-beet industry in Britain. 95
Invention, Gesellschaft für Verwaltung chemisch-technischer Patente, G.m.b.H., und **St. Daranyi,** Berlin, Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung von Azeton und Butylalkohol durch Vergärung von Kohlehydraten. 172
Irvin, G. R., s. **Hockenyos, G. L.**

Jalowetz, E., und **Hamburg, M.,** Verfahren zur Erhöhung der Treibkraft von Bierhefe. 265
Jensen, H. L., The microbiology of farmyard manure decomposition in soil. III. Decomposition of the cells of microorganisms. 81
Joessel, P. H., et **Bordas, J.,** Recherches sur les dépérissements de l'Abricotier dans la vallée du Rhône. 375
Johnson, F. H., Effects of electromagnetic waves on fungi. 268
Jonescu, M. A., Beiträge zur Kenntnis der Fauna der Buchenwaldstreu von Sinaia und Valea Prahovei. 383
Junge, E., Schäden bei Spritzen mit Obstbaumkarbolineum. 85
Jusatz, H. J., s. **Lehmann, H.**

Kahl, A., s. Die **Tierwelt** Deutschlands.
Keller, A., s. **Zielstorff, W.**
—, **M.,** Factors in the preparation of bacteriophage. 173
Kelly, C. D., The rate of chemical change in milk brought about by certain lactic acid streptococci. (Der Verlauf der chemischen Veränderung in Milch durch gewisse Milchsäurestreptokokken.) 76
Klebahn, H., Fortsetzung der experimentellen Untersuchungen über Alloiophyllie und Viruskrankheiten. 91
Klein, G., Handbuch der Pflanzenanalyse. Spezielle Analyse. I. Teil: Anorganische Stoffe. Organische Stoffe. I. 168
Klimmer, M., und **Haupt, H.,** Übertragungsversuche von Galtstreptokokken auf altmilchende Kühe durch Einhüllen des

Euters in mit Galtstreptokokken benetzte Materialien. 485
Klimmer, M., und **Haupt, H.,** Versuche der künstlichen Infektion von Kühen durch Einbringen von Reinkulturen des Streptococcus agalacticae in die Zisterne des Euters. 368
Kluyver, A. J., The chemical activities of microorganisms. 361
Knaysi, Georges, An economical method of producing acidophilus milk. 275
Kniefall s. **Henneberg, W.**
Koch, R., Sind Colibakterien im Bier lebensfähig? 488
Kochs und **Schleferdecker, B.,** Der Einfluß von Fusicladium auf den Geschmack von Obstwein und Süßmost. 278
Köhler, E., Zur Biologie und Cytologie von Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc. 86
Kohl, E. J., Investigations on apple blotch. 175
Koidsumi, K., On the fatal action of low temperatures upon the pupae and larvae of Melon fly (Chaetodacus cucurbitae Coquillett). 382
—, Quantitative studies on the lethal action of X-rays upon certain insects. 93
Kokoski, F. J., s. **Streeter, L. R.**
Kolmer, E., s. **Silberstein, F.**
Kostoff, D., Studies on the acquired immunity in plants induced by grafting. 192
Kraus, K. von, Bakterien im elektrischen Kraftfeld. 188
Kraybill, H. R., Brewer, P. H., Samson, R. W., and **Gardner, M. W.,** A non-infectious leaf-deforming principle from mosaic deforming plants. 176
Kröber, O., Tabaniden und Thereviden. (Die Tierwelt Deutschlands, 26. Teil.) 477
Kroemer, K., und **Krumbholz, G.,** Untersuchungen über osmophile Sproßpilze. 5. Mitt.: Das Verhalten von Sproßpilzen in Nährlösungen mit hohen Neutralsalzkonzentrationen. 363
—, und **Moog, H.,** Die Rebenveredlung. Eine Einführung in den Pfropfrebenbau und seine Grundlagen. 167
Krug, E., s. **Broadhurst, L.**
Krumbholz, G., s. **Kroemer, K.**
Kryž, F., Das mikroskopische Bild der gewöhnlichen und das der präparierten Kieselgur. 269
Kubiena, W., Über Fruchtkörperbildung und engere Standortwahl von Pilzen in Bodenhohlräumen. 492
Kuchler, L. F., und **Wachter, H. von,** Die Sicherung der Grünfutter-Einsäuerung durch Zusatzmittel. 279
Kuhn, Ph., Über die C-Form des Tuberkelbazillus. 67
—, und **Sternberg, K.,** Weitere Befunde bei Bakterien und Pettenkoferien. 71
Langenbuch, R., Beiträge zur Kenntnis der Biologie von Agriotes lineatus L. und A. obscurus L. 380
Langevin, Em., s. **McCrady, M. H.**
Lehmann, H., und **Insatz, H. J.,** Untersuchungen über die Frage, ob sich menschliche Colibakterien von tierischen durch Präzipitation unterscheiden lassen. Zugleich ein Beitrag zur Bedeutung des Colibefundes im Trinkwasser. 83
Lembke, Prüfung des Astra-Platten-Momenterhitzers. 79
Lengerken, H. von, Das Schädlingsbuch (für Gärtner, Gartenfreunde, Siedler und verwandte Berufe, zur Erkennung und Bekämpfung tierischer Schädlinge). 263
Lerche und **Lorenzen,** Erfahrungen in der Amtlichen Milchkontrolle von Vorzugs- und Markenmilch. 483
Levis, R. D., s. **Alben, A. O.**
Lewitow, M. M., s. **Braunstein, A. E.**
Liebetanz, R., Zweckmäßige Vorbehandlung der Späne für die Bierklärung. 488
Liese, W., Die chemische Zellatmung als Hilfsmittel der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung. 494
Lilly, C. H., s. **Raistrick, H.**
Liming, O. N., The relation of pentathionic acid and its component constituents to the toxicity of sulphur fungicides. 85
Lindemann, M., Der Gehalt des Hefepreßsaftes nach Buchner an antineuritischem Vitamin. 486
Löweneck, M., Berichtigung. Untersuchungen über Würzebakterien. Bd. 87. Tab. 5. S. 53. 288
—, Untersuchungen über Würzebakterien. (Orig.) 44
Loos, W., Über eine buchenbewohnende Coratostomella, Ceratostomella fagi nov. spec. 286
Lorenzen s. **Lerche.**
Lüers, H., Jahresbericht der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München 1931/32. 486
Lundegardh, H., Studien über die Nährstoffabsorption der Cerealien und die Ursache nichtparasitäter Krankheiten. (Studier över Strasändens Näringsupptagande samt dettas betydelse för tillväxten och för uppkomsten av icke-parasitära sjukdomar.) 174
Luntz, A., Untersuchungen über die Phototaxis. II. Mitt. Lichtintensität und Schwimmgeschwindigkeit bei Eudorina elegans. 71
—, Untersuchungen über die Phototaxis. III. Mitt. Die Umkehr der Reaktionsrichtung bei starken Lichtintensitäten und ihre Bedeutung für eine allgemeine Theorie der photischen Reizwirkung. 72

Macfarlane, M. G., s. a. **Harden, A.**
—, Fermentation by yeast preparations.

I. The effect of mono-jodoacetate on the fermentation of hexose-diphosphate. II. The action of arsenate on the induction period of zymin. 365
Mackie, W. W., A hitherto unreported disease of maize and beans. 175
—, and **Esau, K.**, A preliminary report on resistance to curly top of sugar beet in bean hybrid and varieties. 90
Maclagan, D. St., An ecological study of the „Lucerne flea" (Smynthurus viridis Linn). I. 381
Macy, H., s. **Wallis, G. C.**
Mader, E. O., s. **Streeter, L. R.**
Malinský, V., Verfahren zur Herstellung von Spiritus aus Stärkefabrikationsabfällen. 265
Mapson, L. W., s. **Cook, R. P.**
Marquardt, J. C., s. **Dahlberg, A. C.**
Mast, S. O., The nature of the action of electricity in producing response and injury in Amoeba proteus (Leidy) and the effect of electricity on the viscosity of protoplasm. 269
McCoy, E., Infection by Bact. radicicola in relation to the microchemistry of the host's cell wells. 67
McCrady, M. H., and **Langevin, Em.**, The Coli-aerogenes determination in pasteurization control. 276
McLellan, B. G., s. **Fernbach, A.**
McNutt, S. H., s. **Murray, Chas.**
Meer, Jikke H. H. van der, A study of the virus from the apparently healthy potato variety "Green Mountain". (Orig.) 240
Meyers, F., s. **Remy, Th.**
Michael, S., s. **Schering-Kahlbaum.**
Miles, H. W., Biological studies on Sawflies infesting ribes. 378
Miller, J. H., and **Harvey, H. W.**, Peanut wilt in Georgia. 174
Minkewitsch, J. E., Zur Bestimmung des Coliaerogenestiters in Milch. 484
Minkevičius, A., Untersuchungen über den Einfluß der Narkose auf die Pilzempfänglichkeit der Pflanzen. 376
Minkewitzsch, J. E., und **Rogosin, J. J.**, Das Milchkoagulationsverfahren für die Bestimmung des Colititers im Wasser. 83
Mischoustin, E. N., A contribution to the physiology of bacteria fermenting urea. (Orig.) 150
Mitsui, Ch., Experimentelle Untersuchungen über die quantitativen Bedingungen der Kontaktinfektion. 188
Möbius, K., s. **Wedekind, E.**
Mohr, W., und **Müller, W.**, Der Verlauf der Säuerung in süß eingedickter Magermilch. I. Mitt. 79
—, —, Der Verlauf der Säuerung in süß eingedickter Magermilch. II. Mitt. 370
Moir, G. M., The effect of heat upon the rennin coagulation. 77
Monod, Th., et **Vladykov, V.**, Sur quelques Copépodes parasites provenant de la Russie Sous-carpathique (Tschécoslovaquie). 183
Moog, H., s. **Kroemer, K.**
Moritz, O., Entstehungsbedingungen und Verhütungsmöglichkeiten der Ophiobolose des Weizens. 88
Morstatt, H., s. **Esmarch, F.**
Mosel, Hans, Untersuchungen über Essiggärung und Oxydation höherer Alkohole in zuckerfreier Nährlösung. (Orig.) 193
Mossel, H., s. **Demeter, K. J.**
Müller, G. W., Über Mermithiden. 187
—, **W.**, s. **Mohr, W.**
Mukerji, B. K., Studies on Calcium cyanamide. II. 82
Murphy, D. F., and **Peel, C. H.**, Insecticidal activity of aliphatic thiocyanates. I. Aphis. 93
Murray, Chas., **McNutt, S. H.**, and **Purwin, Paul**, The effect of pasteurization upon Brucella melitensis var. suis. 277
Mussil, J., und **Smejkal, O.**, Die Verwendbarkeit von p-Oxybenzoesäureestern zur Konservierung von Milch. 277
Muyzenberg, E. W. B. van den, Untersuchungen über Cladosporium cucumerinum Ellis et Arth., die Ursache einer Gurkenkrankheit. (Onderzoek over Cladosp. cucum. E. et A. de veroorzaker van het vruchtvuur van de komkommer.) 283

Nahmmacher, J., Beitrag zur Immunitätszüchtung der Gerste gegen Ustilago nuda forma spec. hordei 285
Neuschul, P., s. **Hermann, S.**
Neuwirth, F., Schädlinge und Krankheiten der Rübe im Jahre 1931. 281
Newton, H. C. F., Notes on some parasites reared from fleabeetles of the genus Phyllotreta (Chrysomelidae). 186
Niehaus, Chas. J. G., Untersuchungen über Apiculatushefen. (Mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung.) (Orig.) 97
Nielson, O., Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit des Kohls und die Trockenfäule an Kohlrüben. (Undersøgelser over „Black bey" paa Kaal og Tørforraadnelse paa Kaalrør.) 377
Niethammer, A., Die Beizwirkung von Germisan auf die Keimung einzelner Wiesengräser bei unterschiedlichen Keimtemperaturen. 375
Nissen, W., s. **Waksman, S. A.**
Noble, W. B., Two wild grasses as hosts of the Hessian fly Phytophaga destructor. 92
Norman, A. G., s. a. **Richards, E. H.**
—, The biological decomposition of plant materials. VI. The effect of hydrogen

ion concentration on the rate of immobilisation of nitrogen by straw. 490
Norman, A. G., J. Miller, s. **Prickett, P. S.**
Nowotelnow, N. W., s. **Horowitz-Wlassowa, L. M.**

Ohly, E., s. **Remy, Th.**
Oldenburg, F., und **Habermann, H.,** Kochgeschmack der Butter. 80
O'Meara, R. A Q., The mechanism of the Voges-Proskauer reaction and the diacetyl reaction for proteïns. 190
Ong, E. R. de, Fungicidal value of pine-tar oil and copper resinate. 495
Osterberger, B. A., s. **Hinds, W. E.**

Palm, B., Pflanzenkrankheiten aus Guatemala. 84
—, **B. T.,** Algae as additional hosts of pathogens to Angiosperms. (Orig.) 229
Pascher, Die Süßwasser-Flora Mitteleuropas. Heft 9. 1932. II. Aufl. — Czurda. T., Zygnemales. 171
Peel, C. H., s. **Murphy, D. F.**
Petersen, W. E., s. **Wallis, G. C.**
Peterson, W. H., s. **Pruess, L. M.**
Pettinger, N. A., Henderson, R. G., and **Wingard, S. A.,** Some nutrial disorders in corn grown in sand cultures. 173
Pfeiler, W., und **Becker,** Einfluß vergaster Kapffscher Säuren auf bakteriologische Nährböden und menschliche Nahrungsmittel. 189
Pharmazeutische Werke „Norgine" A.-G. und Siegwart Hermann, Prag, Herstellung von glukonsauren Salzen durch Gärung. 265
Pierce, L., s. **Roberts, J. W.**
Pierstoff, A. L., A centralized scab-spray service. 495
Pietschmann, K., und **Rippel, A.,** Zur Zellkernfrage bei den Bakterien. Untersuchungen mit Hilfe der Feulgenschen Nuclealreaktion. 361
Poeteren, N. van, Bericht über die Tätigkeit des Pflanzenschutzdienstes des Jahres 1931. (Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1931.) 281
Poschenrider, H., s. **Frey. A.**
Powers, P., Cyclotrichium meunieri sp. n. (Protozoa, Ciliata); cause of red water in the gulf of Maine. 374
Prell, H., Die Individualitätsverhältnisse bei den Bakterien. 71
Prickett, P. S., and Norman, J. Miller, Note on use of alkaline water blanks for plating dried milk products. 371
Pringsheim, E. G., Neues über Purpurbakterien. 363
Prouty, C. C., s. a. **Black, L. A.**
—, and **Bendixen, H. A.,** The viability of Lactobacillus acidophilus as affected by freezing in a Sherbet mixture. 372
Pruess, L. M., Gorcica, H. J., Greene, H. C., and **Peterson, W. H.,** Wachstum und Steringehalt gewisser Schimmelpilze. 482
Purwin, Paul, s. **Murray, Chas.**

Quanjer, H. M., Die Anatomie der phytopathogenen Virusarten. 90
Quastel, J. H., The action of dyestuffs on enzymes. II. Fumarase. 365
—, and **Wheatley, A. H. M.,** The action of dyestuffs on enzymes. I. Dyestuffs and oxidations. 66

Rabien, H., Beitrag zur Frage der Schädigung des Saatgutes durch Trockenbeizen. 282
Raistrick, H., s. a. **Birkinshaw, J. H.**
—, Studies in the biochemistry of microorganisms. In collaboration with Birkinshaw, J. H., Charles, J. H. V., Clutterbuck, P. W., Coyne, F. P., Hetherington, A. C., Lilly, C. H., Rintoul, M. L., Robinson, R., Stoyle, J. A. R., Thom, C. and Young, W. 73
—, and **Anslow, W. K.,** Studies in the biochemistry of microorganisms. XIX. 6-Hydroxy-2-methylbenzoic acid, a product of the metabolism of glucose by Penicillium griseo-fulvum Dierckx. 75
—, and **Rintoul, W.,** I. Introductory. 73
Rappaport, F., s. **Silberstein, F.**
Rus, G., s. **Wolff, L.**
Rathschlag, H., Vorkommen und Verbreitung der Fußkrankheitserreger in der Börde im Jahre 1930/31. 88
Rayss, T., s. **Savulescu, Tr.**

Rebel, H., Über den biologischen Wert von Larvensozietäten. 382
Reddick, D., Some diseases of wild potatoes in Mexico. 175
Reed, G. B., and **Rice, C. E.,** The behaviour of acid-fast bacteria in oil and water systems. 188
Reitsma, J., Studien über Armillaria mellea (Vahl) Quel. 268, 364
Remy, Th., Dhein, A., Meyers, F., und **Ohly, E.,** Bericht über 1930/31 auf Dikopshof durchgeführte Rübenlaubverwertungsversuche. 279
Rice, C. E., s. **Reed, G. B.**
Richards, E. H., and **Normann, A. G.,** The biological decomposition of plant materials. V. Some factors determining the quantity of nitrogen immobilised during decomposition. 491
Richardson, H. W., s. **Crowther, E. M.**
Richter, K., Über die Verwendung von Zerstäubungsapparaten zur Desinfektion und Kulturenverteilung. 361
—, Untersuchungen über die Entwicklung der Bakterienflora in Milch und ihre Abhängigkeit von der Pufferung. I. Abhängigkeit der Entwicklung von säure-

bildenden bzw. nichtsäurebildenden Bakterien von der Pufferung der Milch und die Beeinflussung der Pufferung durch Mineralsalzzufütterung. 78
Ries, E., Experimentelle Symbiosestudien. 192
Rietra, E., Über Bau und Lebensweise von Nemeritis canescens, eines Parasiten von Eph. kuehniella Zeller. (Iets over den bouw en de lebenswijze van Nemeritis canescens [Gravenhorst] als interne parasiet van de larve van Ephestia kuehniella Zeller.) 180
Riker, A. J., s. **Allen, T. C.**
Rintoul, W., s. **Raistrick, H.**
Rippel, August, s. **Pietschmann, K.**
—, und **Stoess, Udo,** Ist Kalzium ein für Mikroorganismen notwendiges Element? 479
—, **K.,** Über die Wirkung von Fungiziden auf Cladosporium fulvum Cooke und die Aussichten einer chemotherapeutischen Bekämpfung des Pilzes. Zugleich ein Beitrag zu den Arbeitsmethoden der experimentellen Phytopathologie. 495
Ritter, W., Eine Nachprüfung des Ruschmannschen Kartoffelbreiverfahrens zum Nachweis von Buttersäurebazillen. 373
Roberts, J. W., und **Pierce, L.,** Zinc-lime: a fungicide for the peach. 90
Robinson, R., s. **Raistrick, H.**
Rodionowa, E. A., s. **Horowitz-Wlassowa, L. M.**
Rogers, L. A., Ripening cheese in a sealed package. 278
Rogosin, J. J., s. **Minkewitzsch, J. E.**
Rosenberg, G., s. **Eschenbrenner, H.**
Rowntree s. **Fernbach, A.**
Rude, C. S., Observations on a combined Boll weevil and Pink bollworm infestation in Northern Mexico. 380
Ruschmann, G., Essigsäurebakterien und Essigsäurebildung im Silofutter. 489
—, und **Gräf, G.,** Einsäuern von rohen Kartoffeln durch Einbetten in Kartoffelbrei. 279

Sacchetti, M., Contributo alla conescenza della flora microbica di alcune formaggi italiani. 1. Nota: Lieviti alcoolici sporigeni. 489
Samson, R. W., s. **Kraybill, H. R.**
Sandiford, B. R., and **Wooldridge, W. R.,** „Resting" bacteria. 480
Sassuchin, D., Zum Studium der Darmprotozoenfauna der Nager im Süd-Osten R. S. F. S. R. I. Darmprotozoen des Citellus pygmaeus Pallas. 186
Satava, J., Die Haltbarkeit des Bieres und dessen Vergärung. 487
Savulescu, Tr., und **Rayss, T.,** Der Einfluß der äußeren Bedingungen auf die Entwicklung der Nigrospora oryzae (B. und Br.) Petch. 376
Schander und Mitarbeiter, Berichte über das Auftreten der Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen im Bereich der Hauptstelle für Pflanzenschutz in Landsberg (Warthe). Vegetationsperiode 1929/30 und 1930/31. 280
Schering-Kahlbaum, A.-G. Berlin (Erfinder: W. Schoeller und S. Michael). Verfahren zur gleichzeitigen Darstellung von Glukonsäure, Zitronensäure und Oxalsäure mit Hilfe von Fadenpilzen. 171
Schleblich, M., Über einen beweglichen Streptokokkus, Streptococcus herbarum n. sp., und zwei vom grünen pflanzlichen Material isolierte sporenbildende Stäbchen. 69
Schleferdecker, B., s. **Kochs.**
Schlicher, E., Über die Lebensdauer der Uredosporen Puccinia triticina. 376
Schimitschek, E., Beobachtungen bei dem Auftreten und der Bekämpfung der Kieferneule, Panolis flammea Schiff., in Nieder-Österreich 1930 und 1931. 288
Schleusener, W., s. **Goetze, G.**
Schloßmann, K., Über das Vorkommen von Bakteriophagen im Wasser. 494
Schlumberger, O., Die Bewertung der Rhizoctonia-Erkrankungen bei der Pflanzkartoffel-Anerkennung. 85
Schmitt, B., s. **Ginsburg, J. M.**
Schnegg, H., Ein neues Verfahren zur Keimfreimachung des Bieres. 487
Schoeller, W., s. **Schering-Kahlbaum.**
Schread, J. C., Behaviour of Trichogramma in field liberations. 181
Schreiber, F., Resistenzzüchtung bei Phaseolus vulgaris. 284
Schüler, W., Eine schnelle Bestimmung des Endvergärungsgrades von Würze und Bier. 487
Schuurmans Stekhoven, J. H. jr., und **Bohnan, Th.,** Zur Ernährungsbiologie von Proleptus obtusus Duj. und die von diesem Parasiten hervorgerufenen Änderungen des Wirtsgewebes. 185
Searls, E. M., A preliminary report on the resistance of certain legumes to certain homopterous insects. 92
Seelemann, M., s. **Bünger, H.**
Seiffert, G., Zur Morphologie und Entwicklung der Tuberkelbazillen. 478
—, **W.,** Untersuchungen über die Variabilität boviner Tuberkelbazillen. 66
Seiter, H., und **Fetzer, H.,** Die wässerige schweflige Säure als Desinfektionsmittel. 190
Shelford, V. E., Some concepts of bioecology. 191
Sherman, J. M., and **Stark, P.,** Streptococci which grow at high temperatures. 272
Siegwert, Hermann, s. **Pharmazeutische Werke** „Norgine".
Silberstein, F., Rappaport, F., und **Kolmer,**

E., Versuche einer Differenzierung innerhalb der Coli-Gruppe. 66
Simon, Ernst, Bemerkung zu den Ausführungen von C. Wehmer (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 166). 62
Skar, Olav, Die Pasteurisierung der Milch. 272
Smejkal, O., s. **Mussil, J.**
Smith, C. E., and **Allen, N.**, The migratory habit of the spotted Cucumber beetle. 92
—, **R. C.**, The control of the pea aphid in alfalfa fields with special reference to the chain drag. 178
—, **W. K.**, The effect of different temperatures on the reaction of hope wheat to bunt. 175
Snyder, W. C., Seed dissemination in fusarium wilt of pea. 87
Sorge, G., s. **Bünger, H.**
Stadler, R., s. **Graßmann, W.**
Stahel, G., Zur Kenntnis der Siebröhrenkrankheit (Phloëmnekrose) des Kaffeebaumes in Surinam. II. 287
Stark, P., s. **Sherman, J. M.**
Steck, W., Ein einfaches Verfahren zum Nachweis geringer Galtstreptokokken-Infektionen. 367
—, Über die Eutercorynebakterien und ihre Beziehungen zu den Euterstreptokokken. 67
Stein, E., Über den durch Radiumbestrahlung von Embryonen erzeugten erblichen Krankheitskomplex der Phytocarcinome von Antirrhinum majus. 376
Sternberg, K., s. **Kuhn, Ph.**
Stewart, J., s. **Woodman, H. E.**
Stocker, W., s. **Teichert, K.**
Stoess, Udo, s. **Rippel, August.**
Stoyle, J. A. R., s. **Birkinshaw, J. H.**, und **Raistrick, H.**
Straib, W., s. **Gaßner, G.**
Streeter, L. R., **Mader, E. O.**, and **Kokoski, F. J.**, The adherence of copper dusts to foliage. 282
Strong, J. C., s. **Hurst, C. T.**
Stunkard, H. W., and **Cable, R. M.**, The liefe history of Parorchis avitus (Linton) a trematode from the cloaca of the gull. 187
Sulc, K., Die tschechoslowakischen Lecanium-Arten. 379
Supper, R., Über die Wirkung von Trockenbeizen. 374
Szilády, Z., Notacantha, Erinnidae und Stratiomyidae. (Die Tierwelt Deutschlands. 26. Teil.) 477

Takahashi, Teizo, and **Asai, Toshinobu**, On Gluconic acid Fermentation. On Bact. Hoshigaki var. glucuronicum I, II u. III nov. spec. (Orig.) 385
Tamiya, H., Über die Verwendbarkeit von verschiedenen Kohlenstoffverbindungen im Bau- und Betriebsstoffwechsel der Schimmelpilze. Studien über die Stoffwechselphysiologie von Aspergillus oryzae. IV. 267
Tapke, V. F., Seed treatments with chemical dusts and formaldehyde for smut control in oats. 87
Taubenhaus, J. J., s. a. **Bach, W. J.**, und **Ezekiel, W. N.**
—, und **Ezekiel, W. N.**, Resistance of monocotyledons to Phymatotrichum root rot. 174
Teichert, K., und **Stocker, W.**, Über den Einfluß farbiger Gläser auf die Beschaffenheit der Milch. 367
Die **Tierwelt** Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile, begründet von Prof. Dr. Friedr. Dahl, weitergeführt von Maria Dahl und Prof. Dr. Hans Bischoff. 25. Teil: Urtiere oder Protozoa. I. Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria) von A. Kahl, Hamburg. 3. Spirotricha. 26. Teil: Zweiflügler oder Diptera. 477
Thom, C., s. **Birkinshaw, J., H.** und **Raistrick, H.**
Thomas, C. A., Observations on mushroom insects. 94
Thompson, F. M., Pine oils as agents for protecting rustic furniture and log cabins from various wood borers. 182
Thung, T. H., „Krul"- und „Kroepoek"-Krankheiten des Tabaks und die Ursachen ihrer Verbreitung. (De krul- en kroepoekziekten van tabak en de vorzaken van hare verbreiding.) 287
Tornow, E., Einwirkung und Nachweis des Quecksilbers bei der Beizung des Saatgutes. 283
Toumanoff, C., Action des champignons entomophytes. 183
Thurston, L. M., and **Barnhart, J. L.**, Some observations on the effect of temperature of pasteurization on the acid coagulation of skimmilk. 367
Toth, G., s. **Graßmann, W.**
Trautwein, K., und **Weigand, K.**, Die direkte Veratmung von Zucker durch Hefe. 483
Travis, B. V., s. **Drake, C. J.**
Triffitt, M. J. (London), Note on a fungus parasite associated with Heterodera schachtii infectious on potatoes. 94
—, On the eelworm Heterodera schachtii attacking peas in Britain. — On the occurrence of Heterodera radicicola associated with Heterod. schachtii as a field parasite in Britain. — On the pathogenicity of Heterodera schachtii to potatoes and mangolds. 95
—, Preliminary note on the use of root excretions as a method of controlling the nematode Heterodera schachtii. 96
Trouvelot, B., Les parasites américains du Doryphore. 179

Tubeuf, von, Bekämpfung von Flechten und Moosen, besonders in Baumschulen und Forstgärten. 375
—, Rhabdocline-Erkrankung an der Douglasie und ihre Bekämpfung. 377

Uichanco, L. B., Water- and oil treatment against soil-inhabiting termites and ants. 181
Ulbrich, E., Über den Formenkreis von Phallus impudicus. 72
Uphof, J. C. Th., Tillandsia usneoides als Pflanzenschädling. 377

Vandecaveye, S. C., Effects of stable manure and certain fertilisers on the microbiological activities in virgin peat. 82
Vedder, A., s. **Dam, W. van.**
Velthorst, H., Die konservierende Wirkung einiger Ester von Para-Oxybenzoesäure. (De conserveerende werking van enkele esters van para-oxybenzoëzuur.) 190
Venkatarayan, S. V., Phytophthora arecae, parasitic on Areca tops, and a strain of P. palmivora Butl. (P. Faberi Maubl.) on a new host, Aleurites fordi. 88
Vladykov, V., s. **Monod, Th.**

Wachter, H. von, s. **Kuchler, L. F.**
Waksman, S. A., and **Nissen, W.,** On the nutrition of the cultivated mushroom, Agaricus campestris, and the chemical changes brought about by this organism in the manure compost. 373
Walker, R. H., Anderson, D. A., and **Brown, P. E.,** The comparative growth rates of Rhizobium meliloti and Rhiz. japonicum. II. Quantitative studies. (Orig.) 27
Wallace, J. M., Physiologic specialization in the epiphytology of Puccinia graminis tritici. 86
Wallis, G. C., Eckles, C. H., Petersen, W. E., and **Macy, H.,** The influence of non-stripping on the bacterial count of machine-drawn milk. (Der Einfluß des Nichtnachmelkens auf den Keimgehalt von Maschinen ermolkener Milch.) 76
Warburg, O., und **Christian, W.,** Ein zweites sauerstoffübertragendes Ferment und sein Absorptionsspektrum. 365
Warren, A. J., s. **Allen, H. W.**
Wedekind, E., und **Möbius, K.,** Systematische Untersuchungen über Kontaktgifte zur Bekämpfung von Forstschädlingen. I. 181
Wegeleben, R., Nachtfrostverhütung durch künstlichen Nebel. 86
Wehlburg, C., Untersuchungen über Erbsenanthraknose. (Onderzoekingen over errotenanthracnose.) 283
Weigand, K., s. **Trautwein, K.**
Wells, J. R., and **Heimbecker, P.,** The respiratory flora of Eskimos in remote northern regions. 191
Welsh, J. H., Specific influence of the host on the light responses of parasitic water mites. 185
Werner, A., s. **Bünger, H.**
—, **W.,** Botanische Beschreibung häufiger am Buttersäureabbau beteiligter sporenbildender Bakterienspezies. (Orig.) 446
Wheatley, A. H. M., s. **Quastel, J. H.**
White, R. P., Chloroses of the rose. 90
Wikulill, L. von, Zur Kenntnis der Körnchenbildung beim Bac. bulgaricus. (Orig.) 59
Wilcoxon, F., s. **Hartzell, A.**
Wille, F., Puffergröße und Auftreten von Pflanzenkrankheiten. (Orig.) 301
Wilson, G. T., Biological control of the greenhouse white fly. 179
Windisch, F., Die Bedeutung des Sauerstoffs für die Hefe und ihre biochemischen Wirkungen. 482
—, Ein alkoholoxydierendes Enzym in der Hefe. 366
Wingard, S. A., s. **Pettinger, N. A.**
Winkelmann, A., Untersuchungen über die Haftfähigkeit von Trockenbeizmitteln. 496
Winogradsky, S., Études sur la microbiologie du sol. (Sixième mémoire.) Sur la synthèse de l'ammoniaque par les Azotobacters du sol. 81
—, Sur la décomposition aerobic de la cellulose par les bactéries. Travaux récents. 64
Wittern, Anna, Beitrage zur Kenntnis der „Mikrobakterien" Orla-Jensen. (Orig.) 412
Wojtkiewicz, A. F., Die Rolle des Salpeters als des die Gasbildung hemmenden Faktors im Käse. (Orig.) 349
Wolf, C. H., s. **Bünger, H.**
Wolff, L. K., und **Ras, L.,** Einige Untersuchungen über die mitogenetischen Strahlen von Gurwitsch. (Eenige onderzookingen over de mitogenetische stralen van Gurwitsch.) 189
Woodman, H. E., and **Stewart, J.,** The mechanism of cellulose digestion in the ruminant organism. III. The action of cellulose-splitting bacteria on the fibre of certain typical feeding stuffs. 491
Wooldridge, W. R., s. **Sandiford, B. R.**
Wynne, A. M., Inhibition of the acetonbutyl alcohol fermentation by acids. 70

Yale, M. W., s. **Hammer, B. W.**
Young, W., s. **Ralstrick, H.**
Yuill, J. L., s. **Fernbach, A.**

Zacher, F., Beiträge zur Kenntnis phytophager Milben. 91
Ziegler, J., & Co., Verfahren und Anlage zur Herstellung von alkoholarmen bzw. alkoholfreien Getränken. 265
Zielstorff, W., und **Keller, A.,** Vergleichende Untersuchungen zwischen Heißmist und Kaltmist. 80
Zechmeister, L., s. **Graßmann, W.**

II. Namen- und Sachverzeichnis.

Aaskäfer, Bekämpfung durch Chlorbarium. 282
—, Schädigung an Rüben. 281
Abavit B, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
— —, Keimschädigung von Getreide. 282
— —, Wirkung, Einfluß des Regens. 374
Acer rubrum, Wirtspflanze von Tillandsia usneoides. 378
Achlya gracilipes, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Acrolepia assectella, Schädling des Porrees, Biologie. 379
Actinomyces, Untersuchung der in Milch vorkommenden Arten. 1
Actinomyceten, Wirkung von Kalzium. 479
Äthylalkohol, Nährstoff für Essigbakterien. 193
—, Wirkung auf Apiculatushefen. 129
Agriotes-Arten, Biologie. 380
Agropyron repens, Wirtspflanze von Phytophaga destructor. 92
Agrotis segetum, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Ailantus glandulosa, Schädigung durch Verticillium dahliae. 284
Aleurites fordi, Schädigung durch Phytophthora palmivora. 88
Aleurodiden, Übertragung der Kroepoek-Krankheit der Tabakpflanze. 287
Algen, Infektion durch Parasiten von Angiospermen. 229
Alternaria, Schädigung von Aprikosenbäumen. 375
— solani, Schädigung an Wildkartoffeln. 175
Amaryllis, Schädigung durch Narzissenfliege. 281
Ameisen, Bekämpfung mit Wasser u. Öl. 181
Amoeba proteus, Wirkung elektrischen Stromes. 269
„Anchor"-Schwefel, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Anemone, Alloiophyllie, Untersuchung. 41
Anguillulina dipsaci, Schädigung an Mohrrüben. 176
— radicicola, Biologie und Wirtspflanzen. 177
— —, Gallen an Elymus arenarius. 177
Anodonta cataracta, Unionicola ypsilophorus var. haldemani Parasit. 185
Ansbacher Grain dust, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Anthonomus grandis, Schädigung von Baumwollstauden. 380
Antirrhinum majus, Defektmutation durch Radiumbestrahlung. 376
Apfelbaum, Schädigung durch Phyllosticta solitaria, Untersuchung. 175
—, Schorf, Organisation der Bekämpfung in U. S. A. 495
Apfelsinenbaum, Wirtspflanze von Tillandsia usneoides. 378
Apfelwickler, Winterbekämpfung. 383
Aphis rumicis, Bekämpfung mit Thiocynat. 93
Apiculatushefen, Morphologie. 101
—, Physiologie. 118
—, Systematik. 143
Aplanobacter michiganense, Welkekrankheit an Tomaten. 281
Aprikosenbaum, Krankheiten u. Schädlinge. 375
Areca catechu, Schädigung durch Phytophthora arecae. 88
Areginal U, Bekämpfung der Dörrobstmotte. 183
Armillaria mellea, Physiologie. 268
— —, Schädigung an Aprikosenbäumen. 375
Arsenpräparate, Bekämpfung von Phyllodecta vulgatissima. 182
Ascochyta-Arten, Erreger der Erbsen-Anthraknose. 283
Aspergillus-Arten, Bildung von Sterin. 482
—, biochemische Merkmale. 74
Aspergillus flavus, Infektionsversuche an Bienen. 183
— niger, Wirkung von Kalzium. 479
— oryzae, Stoffwechsel 267
Aspidiotus perniciosus, Vorkommen in Mitteleuropa. 378
Asterocystis radicis, Vorkommen an Flachs. 284
Atomaria linearis, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Atropa belladonna, Infektion mit Green-Mountain-Virus. 243
Aukuba-Mosaik der Kartoffel, Übertragung mit dem Samen. 287
Avocado, Wirtspflanze von Tillandsia usneoides. 377
Azeton, biologische Gewinnung. 172
Azidophilus-Milch, Herstellung. 275
Azotobacter, Stickstoffbindung, Untersuchung. 81
— chroococcum, Gummibildung. 270
— —, Stickstoffbindung, Wirkung von Molybdän- und Vanadin-Verbindungen. 476

Bacillus amylovorus, Lebensfähigkeit im Boden. 286
— bulgaricus, Körnchenbildung, Untersuchung. 59
— modestus n. sp., Beschreibung. 69
— rarerepertus n. sp., Beschreibung. 69
Bacterium coli, Differenzierung auf Sia-zucker. 66
— —, oligodynamische Silberwirkung. 66
— —, serologische Eigenschaften. 83
— — communis, Oxygenasen, Untersuchung. 65

Bacterium dysenteriae, Wirkung des Bakteriophagen. 70
— hoshigaki var. glucuronicum n. sp., Untersuchung. 385
— pruni, Bekämpfung mit Zinksulfat. 90
— radicicola, Infektion der Wurzelhaare. 67
— solanacearum, Welkekrankheit von Arachis hypogaea. 174
Bakterien, Antagonismus. 70
—, Beschreibung der Buttersäure abbauenden. 446
—, Bildung elementaren Stickstoffs, Untersuchung. 480
—, biologische Einheiten. 71
—, Boden-, Züchtung u. quantitative Bestimmung. 264
—, Essig-, Abbau von Brenztrauben- u. Milchsäure. 480
—, —, Assimilation von Äthylalkohol. 193
—, Färbung, diagnostischer Wert. 271
—, Innenstruktur, Untersuchungsmethode. 264
—, Kohlenstoffbilanz. 481
—, Milch-, Wirkung der Pasteurisierung. 274
—, Milchsäure-, Atmung. 481
—, —, Bildung von Methylglyoxal. 62
—, mitogenetische Strahlen. 189
—, „ruhende", Untersuchung. 480
—, Verhalten in Ölemulsionen. 188
—, Wasser-, säurefeste, Untersuchung. 83
—, Wirkung von Elektrizität. 188
—, — — Hefekulturen. 71
—, — schwefliger Säure. 190
—, Würze-, Untersuchung. 44
—, Zersetzung von Zellulose. 64
Bakteriologie, Nährböden, ph-Bestimmung. 171
Bakteriophagen, Nachweis in Wasser. 494
Banchus femoralis, Parasit von Panolis flammea. 288
Baumwollstaude, Jugendkrankheiten. 285
—, Schädigung durch Anthonomus grandis. 380
—, — — Pectinophora gossypiella. 380
Beauveria bassiana, Infektionsversuche an Bienen. 183
Belebtschlamm, Wirkung industrieller Abwässer. 494
Bibio, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Bier, Endvergärungsgrad, Bestimmungsmethode. 487
—, Haltbarkeit. 487
—, Keimfreimachung, neue Methode. 487
—, Klärung, Vorbehandlung der Späne. 488
Birnbaum, Beschädigung durch Obstbaumkarbolineum. 85
Birngallmücke, Auftreten, Bedeutung von Windschutz. 92
Blasenfüße, Schädigung von Dianthus caryophyllus. 178
Blastocystis, Darmparasit von Citellus pygmaeus. 186
Blattläuse, Bekämpfung mit Thiocyanat. 93
—, widerstandsfähige Erbsensorten. 92
Blattrollkrankheit der Kartoffel, Monographie. 170
Blumenkohl, Wachstum, Wirkung von Chloroformnarkose. 376
Boden, Algenflora. 493
—, Aziditätsschwankungen, mikrobiologische Ursachen. 493
—, Fruktifikation von Pilzen in Hohlräumen. 492
—, Mikroflora, Untersuchung nach Cholodny. 233
—, Nitratbildung, Wirkung von Calciumcyanamid. 82
Bohne, Wachstum, Wirkung von Chloroformnarkose. 376
Bombyx mori, Polyederkrankheit, Ursache u. Wesen. 184
Bordeauxbrühe, Spritzflecken, Haftfähigkeit. 495
Brachyderes incanus, Beschädigung von Kiefern. 281
Braunfleckigkeit des Weizens, Auftreten, Bedingungen. 89
Braunrost, Biotypen, Unterscheidung, Wert der Saugkraftbestimmung. 377
Brenztraubensäure, Abbau durch Essigbakterien. 480
Brucella melitensis var. suis, Wirkung der Pasteurisierung. 277
Bryobia praetiosa, Massenauftreten in Häusern. 91
Buchenwaldstreu, Fauna. 383
Butter, Geschmacksbeeinflussung durch Aerogenes-Typen. 278
—, Kochgeschmack. 80
—, Qualität, Bedeutung der Rahmsäuerungs-Methode. 488
Buttersäure, Abbau, Beschreibung der Bakterien. 446
Butylalkohol, biologische Gewinnung. 172

Calciumcyanid, Bekämpfung von Springschwänzen. 94
Calciumcyanamid, Wirkung auf Nitratbildung im Boden. 82
Callidium antennatum, Bekämpfung mit Kiefernharzöl. 182
Capnodis tenebrionis, Schädigung an Aprikosenbäumen. 375
Capsicum annuum, Infektion mit Green-Mountain-Virus. 243
Carya olivaeformis, Rosettenkrankheit, Bekämpfung mit Eisenchlorid. 176
Cephus pygmaeus, Heterospilus cephi natürlicher Feind. 180
Ceratostomella fagi n. sp., Stockfaule des Buchenholzes. 286
Cercospora beticola, Bekämpfung mit Kalkstickstoff. 85
— —, Schädigung an Zuckerrohr. 282

Ceresan, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
—, Wirkung, Einfluß des Regens. 374
Chaetodacus cucurbitae, Entwicklung bei verschiedenen Temperaturen. 382
Chaetomium, C-Bilanz. 74
Champignon, Beschädigung durch Insekten 94
Chilomastix magna, Darmparasit von Citellus pygmaeus. 186
Chlorbarium, Bekämpfung von Aaskäfern. 282
Chlorbenzolen, Wirkung auf Tenebrio molitor. 182
Chlorgonium, Phototaxis, Untersuchung. 72
Chlorose, infektiöse der Rose. 90
— an Mais durch Ernährungsstörung. 173
Cholodny-Methode, Untersuchung der Boden-Mikroflora. 233
Chrysanthemum-Arten, Schädigung durch Lygus pratensis. 92
Citellus pygmaeus, Darmparasiten. 186
Citromyces lactis, Bildung von Zitronen- u. Oxalsäure. 172
Citrus-Arten, Wirtspflanze von Tillandsia usneoides. 377
Cladophora, Infektion durch Pythium marmillatum. 231
Cladosporium carpophilum, Bekämpfung mit Zinksulfat-Kalkbrühe. 90
— cucumerinum, Schädigung von Gurken. 283
— fulvum, Wirkung von Fungiziden. 495
Clostridium acetobutylicum, Gärung, Wirkung von Säuren. 70
Cocciden, Schädigung des Kaffeebaums. 378
Coëmansia, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Coleopteren, Larven, Bestimmungsschlüssel. 478
Colibakterien, Abtötung in Bier. 488
—, Nachweis im Wasser. 84
Colletotrichum atramentarium, Vergesellschaftung mit Heterodera schachtii. 95
— lindemuthianum, Resistenz von Phaseolus vulgaris, Vererbung. 284
Copepoden, parasitische an Fischen. 184
Coryneum, Schädigung von Aprikosenbäumen. 375
Cyanwasserstoff, Bekämpfung von Porphyrothrips cottei. 178
Cylindrocarpon mali, Infektion von Algen. 231
Cyphomandra betacea, Infektion mit Green Mountain-Virus. 243
Cytophaga, Zersetzung von Zellulose. 64

Dacus-Arten, Wirkung von Röntgenstrahlen. 93
Datura stramonium, Infektion mit Green Mountain-Virus. 243
Dendrin, Bekämpfung von Phyllodecta vulgatissima. 182
Dermestes lardarius, Vorkommen in Haferflocken. 281
Derris, insektentötende Stoffe. 383
Diabrotica duodecimpunctata, Wanderungen. 92
Dianthus caryophyllus, Schädigung durch Blasenfüße. 178
Diatraea, biologische Bekämpfungsversuche mit Trichogramma. 180
Diospilus morosus, Parasit von Phyllotreta nemorum. 186
Diplodia natalensis, Welkekrankheit von Arachis hypogaea. 174
Dipteren Deutschlands. 477
Dörrobstmotte, Bekämpfung mit Aregi, nal U. 183
Doryphorophaga doryphorae, natürlicher Feind des Kartoffelkäfers. 179
Douglasii, Gefährdung durch Rhabdocline, Verhütung. 377
Drahtwürmer, Auftreten, Bedeutung dos ph. 380
—, Bekämpfung mit Ködern. 84
—, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Düngung, Bedeutung für die Widerstandsfähigkeit des Mais gegen Frost. 173

Eiche, Schädigung durch Lecanium pulchrum. 379
—, — — Stilpnotia salicis. 179
—, Wirtspflanze von Tillandsia usneoides. 378
Eisenchlorid, Bekämpfung der Rosettenkrankheit von Carya olivaeformis. 176
Elektrizität, Wirkung auf Amoeba proteus. 269
—, — — Bakterien. 188
Elymus arenarius, Gallen durch Anguillulina radicicola. 177
— canadensis, Wirtspflanze von Phytophaga destructor. 92
Empoasca fabae, widerstandsfähige Luzernesorten. 92
Encarsia formosa, biologische Bekämpfung von Trialeurodes vaporiariorum. 179
Engerlinge, Bekämpfung durch Bodenbearbeitung. 93
—, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Entamoeba citelli, Darmparasit von Citellus pygmaeus. 186
Ephestia kuehniella, Nemeritis canescens natürlicher Feind. 180
Epitetranychus fagi, Schädigung an Rotbuche. 91
Erbse, Anthraknose, Erreger. 283
—, Saatgut, Infektion mit Fusarium orthoceras var. pisi. 88
—, Schädigung durch Heterodera schachtii. 95
—, Sortenwiderstandsfähigkeit gegen Blattläuse u. Zikaden. 92
Erdbeerpflanze, Schädigung durch Ophonus pubescens. 281

Erdflöhe, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Erdflohkäfer, Parasiten. 186
Eremosphaera viridis, Vorkommen im Boden. 493
Erinnidae Deutschlands. 477
Essigsäure, Bildung in Silofutter, Untersuchung. 489
—, Nährstoff für Essigbakterien. 221
Eudorina elegans, Schwimmgeschwindigkeit, Wirkung des Lichtes. 72
Eutercorynebakterien, Beziehung zu Streptokokken. 67

Feigenbaum, Krankheitserreger, Übertragung durch Milben und Thripsarten. 89
Feldmäuse, Beschädigung von Zuckerrüben. 281
Ferrisia virgata, Schädigung des Kaffeebaums. 378
Festuca-Arten, Beizung mit Germisan. 375
Fichte, Flechten, Abtötung mit Kupferkalkbrühe. 375
Fische, parasitische Copepoden. 184
Flachs, Schädigung durch Pythium megalocanthum. 284
Flechten, Abtötung an Fichten mit Kupferkalkbrühe. 375
Fliegenlarven, Beschädigung von Champignonkulturen. 94
Fluorzucker-Köder, Bekämpfung von Phyllodecta vulgatissima. 182
Fomes roseus, Zerstörung von Pinus ponderosa-Holz, Bedeutung der Feuchtigkeit. 89
Formaldehyd, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Frankliniella tritici, Übertragung von Feigen-Krankheiten. 89
Fritfliegenschaden an Hafer, Verhütung durch Mischsaat. 380
Frosch, pathol. Veränderungen durch parasitische Nematoden. 186
Frost, Verhütung von Schäden durch Säurenebel. 86
—, Widerstandsfähigkeit von Mais, Bedeutung der Düngung. 173
Fusarium, Schädigung an Aprikosenbäumen. 375
Fusarium-Arten, biochemische Merkmale. 74
— - —, Fußkrankheiten an Getreide. 88
— - —, Schädigung von Baumwollpflanzen. 285
Fusarium martii var. phaseoli, Welkekrankheit von Arachis hypogaea. 174
— orthoceras var. pisi, Verbreitung mit Erbsensamen. 88
Fusicladium, Wirkung auf den Geschmack von Obstwein. 278
Fußkrankheiten des Getreides durch Fusarien und Ophiobolus graminis. 88

Gärungsorganismen, Atlas. 262
Gallen durch Anguillulina radicicola an Elymus arenarius. 177
Galtstreptokokken, Übertragung auf altmilchende Kühe. 485
Gartenbau, Schädlinge, Erkennung u. Bekämpfung. 263
Germisan, Beizung von Wiesengräsern. 375
Gerste, Flugbrandbefall, Merkmale vor dem Ährenschieben. 85
—, Immunitätszüchtung gegen Flugbrand. 285
—, Streifenkrankheit, Bekämpfung. 281
Getränke, alkoholarme, Herstellung mit Thermobact. mobile. 265
Getreide, Beizung mit Quecksilberpräparaten, Verfütterung. 283
—, Fußkrankheiten durch Fusarien u. Ophiobolus graminis. 88
—, Keimschädigung durch Abavit B. 282
—, Nährstoffabsorption u. nichtparasitäre Krankheiten. 174
—, Rostresistenz in verschiedenen Entwicklungsstadien. 285
Gewebe, Transplantationsversuche. 192
Giardia beckeri, Darmparasit von Citellus pygmaeus. 186
Gibberella saubinetii, Infektion von Algen. 231
Glukonsäure, Bildung durch Bact. hoshigaki var. glucuronicum. 385
—, biologische Gewinnung. 171
—, Salze, biologische Gewinnung. 265
Glykonsäure, biologische Gewinnung. 266
Grünland, Schädlinge. 280
Gurke, Schädigung durch Cladosporium cucumerinum. 283

Hafer, Fritfliegenbefall, Verhütung durch Mischsaat. 380
—, Schädigung durch Tarsonemus spirifex. 281
Haferflocken, Vorkommen von Dermestes lardarius. 281
Haifisch, Proleptus obtusus Parasit. 185
Haplothrips aculeatus, Weißährigkeit an Weizen. 280
Hefe, Bier-, Erhöhung der Triebkraft. 265
—, direkte Veratmung von Zucker. 483
—, fabrikmäßige Herstellung. 278
—, Fernwirkung auf Bakterien. 71
—, Gärung, Bedeutung des Sauerstoffs. 482
—, Gewinnung. 266
—, Preßsaft, Vitamingehalt. 486
Heliothis, biologische Bekämpfungsversuche mit Trichogramma. 180
Heliothrips fasciatus, Übertragung von Feigenkrankheiten. 89
Hessenfliege s. Phytophaga destructor.
Heterodera radicicola, neuer Name. 177
— —, Schädigung an Mohrrüben u. Pastinak. 95
— schachtii, Beschädigung von Zuckerrüben. 282

Heterodera schachtii, Cysten, Reizung durch Graswurzel-Ausscheidungen. 96
— —, Schädigung an Erbsen. 95
— —, — — Kartoffeln u. Mangold. 95
— —, Vergesellschaftung mit Colletotrichum atramentarium. 95
Heterospilus cephi, natürlicher Feind von Cephus pyamaeus. 180
Hofmannophila pseudopretella, Beschädigung von Roggen auf dem Speicher. 281
Holz, Zerstörung durch Ceratostomella fagi. 286
Honigbiene, Mykosen. 183
Hyalopus crystallinus, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Hylotrupus bajulus, Scheinzersetzung von Holz. 191
— ligneus, Bekämpfung mit Kiefernharzöl. 182
Hyoscyamus niger, Infektion mit Green Mountain-Virus. 243

Illinoia pisi, Bekämpfungsverfahren. 178
— —, widerstandsfähige Erbsensorten. 92
Insekten, Beschädigung von Champignons. 94
Isaria farinosa, Infektionsversuche an Bienen. 183

Käse, Cheddar-, Reifung in verschlossenen Konservenbüchsen. 278
—, Weich-, sporenbildende Hefen, Beschreibung. 489
Kaffeebaum, Cocciden. 378
—, Phloemnekrose, Vorkommen in Brasilien. 287
—, Schädigung durch Borkenkäfer. 94
—, — — Nematoden, Bedeutung der Düngung. 288
—, — — Omphalia flava. 84
—, — — Xylosandrus-Arten. 381
Kalkstickstoff, Bekämpfung von Windhalm. 280
Kalzium, Entbehrlichkeit für einige Mikroorganismen. 479
Kalziumarsenat, Bekämpfung von Panolis flammea. 288
Kantsmut, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Kartoffel, Anerkennung, Bewertung der Rhizotonia-Pocken. 85
—, Aukuba-Mosaik, Übertragung mit dem Samen. 287
—, Blattrollkrankheit, Monographie. 170
—, Einsäuerung. 279
—, Haftfähigkeit von Kupferstäubmittel an den Blättern. 282
—, Schädigung durch Heterodera schachtii. 95
—, Viruskrankheit, Übertragung auf andere Pflanzen. 241
—, —, Untersuchung. 91
—, Wildformen, parasitische Pilze. 175
Kartoffelkäfer, natürliche Feinde in U. S. A. 179
Katadynverfahren, Beeinträchtigung durch organische Stoffe. 486
Kiefer, Beschädigung von Brachyderos incanus. 281
Kieferneule s. Panolis flammea.
Kiefernharzöl, Bekämpfung von Insektenlarven im Weißzedernholz. 182
Kiefernteeröl, insektizider Wert. 495
Kieselalgen, mikroskopische Untersuchung. 269
Kloecheraspora n. gen., Beschreibung. 145
Koniferen, Schädigung durch Paratetranychus brevipilosus. 91
Kontaktinfektionen, experimentelle Untersuchung. 188
Krähe, pathol. Veränderungen durch parasitische Nematoden. 186
Krebse, Proleptus obtusus Parasit. 185
Kupferkalkbrühe, Abtötung von Flechten an Fichten. 375
Kupferkarbonat, Wirkung auf Tilletia nach Lagerung des gebeizten Weizens. 176
Kupferresinat, fungizider Wert. 495
Kupferstäubmittel, Haftfähigkeit an Kartoffelblättern. 282
Kupfersulfat, Bekämpfung von Moos. 375
—, Wirkung auf Cladosporium fulvum. 496

Laspeyresia molesta, Schädigung des Pfirsichbaumes. 180
— —, vergeblicher biolog. Bekämpfungsversuch mit Trichogramma. 180
Lebia grandis, natürlicher Feind des Kartoffelkäfers. 179
Lecanium-Arten der Tschechoslowakei. 379
Lecanium pulchrum, Schädigung von Eichen. 379
Lein, Flachsbrand, Erreger 284
Licht, ultraviolettes, Wirkung auf Pilze. 268
Linde, Schädigung durch Tetranychus telarius. 91
Liothrips ilex, Übertragung von Feigen-Krankheiten. 89
Lumbricus terestris, „Bakteroide", Untersuchung. 187
Luzerne, Sortenwiderstandsfähigkeit gegen Blattläuse und Zikaden. 92
Lygus pratensis, Schädigung von Chrysanthemum-Arten. 92

Macrophoma hennebergii, Biologie u. wirtschaftliche Bedeutung. 89
Mais, Chlorose durch Ernährungsstörung. 173
—, Frostresistenz, Bedeutung der Düngung. 173
—, Schädigung durch Rhizoctonia batatícola. 175
Malvariscus conzattii, Widerstandsfähigkeit gegen Phymatotrichum omnivorum. 174

Mangold, Schädigung durch Heterodera schachtii. 95
Maufwurfsgrille, Beschädigung von Zuckerrüben. 281
Megastigmus aculeatus, Beschädigung von Rosen. 281
Meritol, Bekämpfung von Phyllodecta vulgatissima. 182
Mermithiden, Bau. 187
Micrococcus lysodeikticus, Wirkung von Lysozym auf das Oxydations-Reduktions-Potential. 69
Mikroorganismen, Biochemie. 73
—, Stoffwechsel, Untersuchungsmethodik. 171
—, Wirkung von Kalzium. 479
Mikrobakterien, Untersuchung. 412
Milben, Beschädigung von Champignonkulturen. 94
—, Übertragung von Feigen-Krankheiten. 89
Milch, amtliche Kontrolle. 483
—, Bakterienflora, Bedeutung der Pufferung. 78
—, Bakteriengehalt, Bestimmung. 274
—, —, Wirkung der Pasteurisierung. 274
—, chemische Veränderung durch Streptokokken. 76
—, Coliaerogenestiter, Bestimmung. 484
—, evaporierte, bakteriologische Untersuchung. 276
—, Gerinnung durch Bact. typhi. 485
—, Keimgehalt, Wirkung des Nachmelkens. 76
—, Konservierung mit p-Oxybenzoesäureestern. 277
—, Mager-, süß eingedickte, Säuerung. 79
—, Milchsäurebildung, Wirkung von Monojodessigsäure. 485
—, pasteurisierte, Nachweis von Coli aerogenes-Infektion. 276
—, Pasteurisierung. 272
—, sterilisierte, bakteriologische Untersuchung. 77
—, Trocken-, bakteriologische Methoden. 275
—, Untersuchung von Handelsproben. 78
—, Vorkommen von Actinomyces-Arten. 1
—, — — Mikrobakterien. 413
Milchsäure, Abbau durch Essigbakterien. 480
Mist, Heiß- und Kalt-, Vergleich. 80
Mitochondrien, Kultur auf Nährböden. 173
Mohrrübe, Schädigung durch Anguillulina dipsaci. 176
—, — — Heterodera radicicola. 95
Molybdän-Verbindungen, Wirkung auf Stickstoffbindung. 476
Monilia, Schädigung von Aprikosenbäumen 375
Moos, Bekämpfung mit Kupfersulfat. 375
Mosaikkrankheiten, Vorkommen nichtinfektiöser blattdeformierender Substanzen. 176
Mucor-Arten, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Mycogone, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Mycosphaerella pinodes, Erreger der Erbsen-Anthraknose. 283
Myrthe, Schädigung durch Paratetranychus nuptialis. 91

Naphthalin, Bekämpfungsversuche an Phorbia brassicae. 182
Narzissenfliege, Schädigung von Amaryllis. 281
Nematoden, Parasiten von Pflanzen. 177
—, parasitische, histopathologische Veränderungen. 186
—, Schädigung am Kaffeebaum, Bedeutung der Düngung. 288
—, systematische Stellung. 178
Nemeritis canescens, natürlicher Feind von Ephestia kuchniella. 180
Niagara-Schwefel, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Nigrospora oryzae, Entwicklung, Wirkung der Umweltfaktoren. 376
Niol, Bekämpfung des Rapsglanzkäfers. 281
Nipasol-Natrium, Konservierungsmittel. 190
Notacantha Deutschlands. 477

Obstbaumkarbolineum, Beschädigung von Birnbäumen. 85
Obstmade, Vergesellschaftung mit Phytomonas melophthora. 287
Octomitus pulcher, Darmparasit von Citellus pygmaeus. 186
Oedocephalum glomerulosum, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Omphalia flava, Auftreten, Bedeutung der Unkrautvertilgung. 84
Ophiobolus graminis, Fußkrankheiten an Getreide. 88
Ophiobolus-Krankheit des Weizens, Entstehung u. Verhütung. 88
Ophonus pubescens, Schädigung von Erdbeerpflanzen. 281
Otiorrhynchus ligustici, Bekämpfung mit Perrit-Blitol. 282
Oxalsäure, biologische Gewinnung. 171
Oxybenzoesäure, konservierende Wirkung. 190
Oxybenzoesäureester, Konservierung von Milch. 277

Panolis flammea, Bekämpfung mit Kaliumarsenat 288
— —, natürliche Feinde. 288
Panzeria rudis, Parasit von Panolis flammea. 288
Pappel, Schädigung durch Stilpnotia salicis. 179
Paratetranychus brevipilosus, Schädigung an Koniferen. 91

Paratetranychus nuptialis n. sp., Schädigung an Myrthen. 91
Parorchis avitus, Entwicklung. 187
Pastinak, Schädigung durch Heterodera radicicola. 95
Pectinophora gossypiella, Schädigung von Baumwollstauden. 380
Pediastrum sturmii var. inaculeatum, Vorkommen im Boden. 494
Pediculoides ventricosus, natürlicher Feind von Stilpnotia salicis. 179
Pediculopsis gramineum, Schädigung von Schwingel. 281
Pegomyia betae, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Penicillium, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
— - Arten, Bildung von Sterin. 482
— - —, biochemische Merkmale. 74
— - —, Wirkung von Kalzium. 479
— brevicaule, Widerstandsfähigkeit gegen Säure und Hitze. 482
— griseo-fulvum, Biochemie. 75
— puberulum, Bildung von Ergosterin. 482
Pennisetum typhoideum, Schädigung durch Sclerospora graminicola. 89
Perilitus aethiops, Parasit von Phyllotreta nemorum. 186
Perillus bioculatus, natürlicher Feind des Kartoffelkäfers. 179
Periplaneta americana, Parasiten im Fettkörper. 183
Perrit-Blitol, Bekämpfung von Otiorrhynchus ligustici. 282
Pfirsichbaum, Schädigung durch Laspeyresia molesta. 180
Pfirsichmotte, biol. Bekämpfungsversuch mit Trichogramma. 181
Pflanzen, Bildung von Präzipitinen. 192
—, Chemie. 168
—, Frosthärte refraktometrische Bestimmung. 383
—, mosaikkranke, Vorkommen nichtinfektiöser blattdeformierender Substanzen. 176
—, Pilzempfänglichkeit, Wirkung der Narkose. 376
Pflanzenkrankheiten Guatemalas. 84
Pfropfrebenbau, Einführung. 167
Phallus impudicus, geographische Verbreitung. 72
Phaseolus-Arten, Sortenimmunität gegen Zuckerrüben-Kräuselkrankheit. 90
— vulgaris, Resitenz gegenüber Colletotrichum lindemuthianum, Vererbung. 284
— —, Schädigung durch Rhizoctonia bataticola. 175
Phloemnekrose des Kaffeebaums, Vorkommen in Brasilien. 287
Phloeosinus dentatus, Bekämpfung mit Kiefernharzöl. 182
Phoma lingam, Bekämpfung durch Saatgutbeize mit Uspulun. 377
Phorbia brassicae, Bekämpfungsversuche mit Naphthalin. 182
Phyllodecta vulgatissima, Bekämpfungsversuche. 182
Phyllosticta solitaria, Schädigung am Apfelbaum, Untersuchung. 175
Phymatotrichum omnivorum, Widerstandsfähigkeit von Malvaviscus conzattii. 174
Physalis alkekengi, Infektion mit Green Mountain-Virus. 243
Phytomonas melophthora n. sp., Vergesellschaftung mit der Obstmade. 287
Phytophthora arecae, Schädigung von Areca catechu. 88
— infestans, Schädigung an Wildkartoffeln. 175
— —, starkes Auftreten in Holland. 281
— palmivora, Kreuzung mit P. arecae. 88
— —, Schädigung von Aleurites fordi. 88
Pilze, C-Bilanz. 74
—, Fruchtkörperbildung in Bodenhohlräumen. 492
—, Schimmel-, Bildung von Sterin. 482
—, — -, — von Zitronensäure. 172
—, — -, biochemische Untersuchung. 75
—, Wirkung elektromagnetischer Strahlen. 268
—, — von Kalzium. 479
Pinus echinata, Wirtspflanze von Tillandsia usneoides. 377
— ponderosa, Holz, Zerstörung durch Fomes roseus, Bedeutung der Feuchtigkeit. 89
Platten, Gußvorrichtung. 264
Poa-Arten, Beizung mit Germisan. 375
Polvosol, Bekämpfung von Tyrophagus infestans. 281
Polyederkrankheit an Bombyx mori, Ursache und Wesen. 184
Porphyrothrips cottei, Bekämpfung mit Cyanwasserstoff. 178
Porree, Schädigung durch Acrolepia assectella. 379
Pristiphora pallipes, Schädigung von Ribes. 378
Proleptus obtusus, Parasit von Krebsen und Haifischen. 185
Promecotheca cumingii, parasitischer Pilz. 184
Propylalkohol, Nährstoff für Essigbakterien. 207
Pseudococcus-Arten, Schädigung des Kaffeebaums. 378
Pseudomonas lindneri, Unterschied von Würzebakterien. 58
Pteronidea-Arten, Schädigung von Ribes. 378
Puccinia graminis tritici, physiologische Formen in U. S. A. 86
— pittieriana, Schädigung an Wildkartoffel. 175
— triticina, Infektionsgrad, Bedeutung der Temperatur. 87
— —, Uredosporen, Lebensdauer. 376

Pyrethrin, insektizide Wirkung, Vergleich mit Rotenon. 383
Pyrethrum-Extrakte, insektizide Wirkung. 93
Pythium mamillatum, Infektion von Cladophora. 231
— megalocanthum, Schädigung von Flachs. 284

Radium, Strahlen, Defektmutation an Anthirrhinum majus. 376
Rapsglanzkäfer, Bekämpfung mit Nicol und Schweinfurter Grün. 281
Rauchschäden, Prüfung und Beurteilung. 263
Rhabdocline, Gefährdung von Douglasien, Verhütung. 377
Rhagionidae Deutschlands. 477
Rhizobium meliloti, Wachstum, Vergleich mit Rh. japonicum. 27
Rhizoctonia bataticola, Wirtspflanzen. 175
— gossypii var. anatolica, Schädigung an Baumwollpflanzen. 285
— solani, Bewertung bei der Kartoffel-Anerkennung. 85
Rhizopus nigricans, Schädigung von Baumwollpflanzen. 285
— nigricans, Wirkung von Kalzium. 479
— nodosus, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Ribes, Schädigung durch Pristiphora pallipes. 378
—, — — Pteronidea-Arten. 378
Röntgenstrahlen, Wirkung auf Dacus-Arten. 93
Roggen, Beschädigung durch Hofmannophila pseudopretella auf den Speicher. 281
Rose, Beschädigung durch Megastigmus aculeatus. 281
—, Chlorose, infektiöse. 90
Rosellinia necatrix, Infektion von Algen. 231
Rosettenkrankheit von Carya olivaeformis, Bekämpfung mit Eisenchlorid. 176
Rostresistenz von Getreide in verschiedenen Entwicklungsstadien. 285
Rotbuche, Schädigung durch Epitetranychus fagi. 91
Rotenon, insektizide Wirkung, Vergleich mit Pyrethrin. 383
Rübe, Schädigung durch Aaskäfer. 281
Rübenblätter, Einsäuerungsversuche. 279
Rüsselkäfer, Beschädigung von Zuckerrüben. 282
Runkelfliege, Bekämpfung. 84

Säurenebel, Frostverhütung. 86
Scatonema wülkeri n. gen. et n. sp., Parasit von Scatopse fuscipes. 384
Schildkäfer, Beschädigung von Zuckerrüben. 281
Schildkröte, pathol. Veränderungen durch parasitische Nematoden. 186
Schlange, pathol. Veränderungen durch parasitische Nematoden. 186
Schorf des Apfelbaums, Organisation der Bekämpfung in U. S. A. 495
Schwefel, fungizide Wirkung, Erklärung. 85
Schweflige Säure, bakterizide Wirkung. 190
Schweinfurter Grün, Bekämpfung des Rapsglanzkäfers. 281
Schwingel, Schädigung durch Pediculopsis gramineum. 281
Scirpophaga intacta, Schädigung an Zukkerrohr, Bedeutung des Regens. 379
Sclerospora graminicola, Schädigung von Pennisetum typhoideum. 89
Sclerotinia, C-Bilanz. 74
— fructicola, Bekämpfung mit Zinksulfat-Kalkbrühe. 90
Sclerotium rolfsii, Welkekrankheit von Arachis hypogaea. 174
Scopulariopsis brevicaule s. Penicillium brevicaule.
Senecio vulgaris, Wirtspflanze von Lygus pratensis. 92
Silofutter, Essigsäurebakterien u. Essigsäurebildung. 489
Smuttox, Bekämpfung von Haferflugbrand 87
Smynthurus viridis, Biologie u. natürliche Feinde. 381
Sojabohne, Impfversuche. 279
Solanum-Arten, Infektion mit Green Mountain-Virus. 243
Sordaria, C-Bilanz. 74
Spiritus, Herstellung aus Stärkefabrikationsabfällen. 265
Spirotricha Deutschlands. 477
Sporotrichum, Fruktifikation in Bodenhohlräumen. 492
Springschwänze, Beschädigung von Champignonkulturen. 94
Staphylokokken, Kulturfiltrate, Untersuchung. 188
Sterigmatocystis niger, Bildung von Glykonsäure. 172
Sterna-Arten, Wirte von Parorchis avitus. 187
Sterocide, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Stickstoff, Bindung, Förderung durch Molybdän- u. Vanadin-Verbindungen. 476
—, elementarer, Bildung durch Bakterien. 480
Stilpnotia salicis, Pediculoides ventricosus natürlicher Feind. 179
— —, Schädigung an Eiche, Pappel u. Weide. 179
Stinkbrand des Weizens, Abhängigkeit von äußeren Faktoren. 285
Stratiomyidae Deutschlands. 477
Streifenkrankheit der Gerste, Bekämpfung. 281
Streptococcus herbarum n. sp., Merkmale. 69

Streptokokken, Änderung von Blutnährböden. 68
—, chemische Veränderung von Milch. 76
—, thermophile. 272
Stroh, Zersetzung, Wirkung des ph. 490
Sublimat, Wirkung auf Cladosporium fulvum. 496
Synchytrium endobioticum, Biologie u. Cytologie. 86

Tabakpflanze, Kroepoek-Krankheit, Übertragung durch Aleurodiden. 287
—, Mosaikvirus, Untersuchung. 91
Tarsonemus spirifex, Schädigung an Hafer. 281
Tausendfüßler, Beschädigung von Zuckerrüben. 281
Taxodium distichum, Wirtspflanze von Tillandsia usneoides. 377
Tenebrio molitor, Wirkung von Chlorbenzolen. 182
Termiten, Bekämpfung mit Wasser und Öl. 181
Tetranychus, Beschädigung von Zuckerrüben. 281
— telarius, Schädigung an Linde. 91
Tetratrichomastix citelli, Darmparasit von Citellus pygmaeus. 186
Thais lapillus, Wirt von Parorchis avitus. 187
Thermobacterium mobile, Herstellung alkoholarmer Getränke. 265
Thielavia basiola, Vorkommen an Flachs. 284
Thiocyanat, Bekämpfungsmittel gegen Aphis rumicis. 93
Thrips bremneri, Übertragung von Feigenkrankheiten. 89
Tiere, Massenwechsel. 382
Tillandsia usneoides, Wirtspflanzen. 377
Tillantin, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Tilletia tritici, Sporenbildung am Halm, Bedingungen. 175
— —, Widerstandsfähigkeit von Weizensorten, Einfluß der Temperaturen. 175
Tinea illuminatella, starkes Auftreten. 280
Tomate, Infektion mit Green Mountain-Virus. 243
—, Welkekrankheit durch Aplanobacter michiganense. 281
Trialeurodes vaporiariorum, biologische Bekämpfung mit Encarsia formosa. 179
Trichogramma, biolog. Bekämpfungsversuche gegen Diatraea u. Heliothis. 180
—, Flugvermögen. 181
—, vergeblicher biologischer Bekämpfungsversuch gegen Laspeyresia molesta. 180
Trichomonas muris v. citelli, Darmparasit von Citellus pygmaeus. 186
Trisetum-Arten, Beizung mit Germisan. 375
Trockenbeizmittel, Haftfähigkeit, Untersuchung. 496
Trockenbeizmittel, Lagerbeizwirkung. 375
—, Wirkung, Einfluß des Regens. 374
Tuberkelbazillen, bovine, Variabilität. 66
—, Morphologie und Entwicklung. 478
—, Nachweis in Vorzugs- u. Markenmilch. 484
Tutan, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
—, Wirkung, Einfluß des Regens. 374
Tyrophagus infestans, Bekämpfung durch Polvosol. 281

Unionicola ypsilophorus var. haldemani, Parasit von Anodonta cataracta. 185
Uredinales, Terminologie. 73
Urobacillus-Arten, Physiologie. 150
Urosalpinx cinereus, Wirt von Parorchis avitus. 187
Uspulun, Bekämpfung von Phoma lingam durch Saatgutbeize. 377
—, Wirkung auf Cladosporium fulvum. 496
Ustilago, C-Bilanz. 74
— avenae, physiologische Formen in U. S. A. 87

Vanadin-Verbindungen, Wirkung auf Stickstoffbindung. 476
Vanessa io, Larvengemeinschaften, biologischer Wert. 382
Verbena venosa, Schädigung durch Aphelenchus ritzemabosi. 176
Verticillium, Schädigung von Aprikosenbäumen. 375
— dahliae, Schädigung von Ailantus glandulosa. 284
Vigna sinensis, Schädigung durch Rhizoctonia bataticola. 175
Virus, Wesen. 271
Viruskrankheit der Green-Mountain-Kartoffel, Übertragungsversuche. 240
—, Autonomie der verschiedenen Arten. 90
Volvox, Phototaxis, Untersuchung. 72

Wa-Wa-Dust, Bekämpfung von Haferflugbrand. 87
Wasser, destilliertes, olygodynamische Wirkung. 83
—, Nachweis von Colibakterien. 84
—, Trink-, bakteriologische Untersuchungsmethode. 494
—, Vorkommen von Bakteriophagen. 494
Weide, Schädigung durch Stilpnotia salicis. 179
Wein, Obst-, Wirkung von Fusicladium auf den Geschmack. 278
Weinstock, Veredlung. 167
Weißährigkeit des Weizens durch Haplothrips aculeatus. 280
Weißzedernholz, Insektenlarven, Bekämpfung mit Kiefernharzöl. 182
Weizen, Braunfleckigkeit, Bedeutung der Witterung für d. Auftreten. 89

Weizen, Ophiobolus-Krankheit, Entstehung u. Verhütung. 88
—, Stinkbrand, Abhängigkeit von äußeren Faktoren. 285
—, —, Trockenbeizwirkung nach Lagerung. 176
—, Weißährigkeit durch Haplothrips aculeatus. 280
—, Widerstandsfähigkeit gegen Tilletia, Bedeutung der Temperatur. 175
Welkekrankheit an Tomaten durch Aplanobacter michiganense. 281
Wiesengräser, Beizung mit Germisan. 375
Windhalm, Bekämpfung mit Kalkstickstoff. 280
Würze, Selleriegeruch, Untersuchung. 44

Xylosandrus-Arten, Schädigung des Kaffeebaums. 381

Zellulose, Verdaulichkeit durch Bakterien, Bedeutung der Inkrustierung. 492
—, Zersetzung durch Bakterien. 64
Ziesel s. Citellus pygmaeus.
Zikaden, widerstandsfähige Erbsen- und Luzernensorten. 92
Zinksulfat, Bekämpfung von Bacterium pruni. 90
Zitronensäure, biologische Gewinnung. 171, 266
Zuckerrohr, Schädigung durch Scirpophaga intacta, Bedeutung des Regens. 379
Zuckerrübe, Kräuselkrankheit, Sorten-Immunität von Phaseolus-Arten. 90
—, Schädlinge in der Tschechoslowakei. 281
Zygnemales, Flora Mitteleuropas. 171
Zygosaccharomyces casei n. sp., Beschreibung. 489

Fürstl. priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff) in Rudolstadt